

Aus dem Hygiene-Institut der Philipps-Uni-
versität Marburg/Lahn.

Direktor: Prof.Dr.med. R. Siegert

DIE TEMPERATURBEDÜRFNISSE DES WACHSTUMS DER
ACINETOBACTER-GRUPPE (EINE TAXONOMISCHE STUDIE)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades des Fachberei-
ches Humanmedizin der Philipps-Universität
Marburg/Lahn

vorgelegt von
Harro Simon
aus Zossen

Marburg 1972

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Hygiene-Institut der Philipps-Universitäts Marburg/L.
Direktor: Professor Dr. med. R. Siegert

DIE TEMPERATURBEDÜRFNISSE DES WACHSTUMS DER ACINETOBACTER-
GRUPPE (EINE TAXONOMISCHE STUDIE)



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereiches
Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von Harro Simon aus Zossen

Marburg 1972



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg/Lahn am 23.1.1973

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Hu-
manmedizin.

Dekan: Prof.Dr.med.H.Oepen

Referent: Prof.Dr.med.W.Mannheim

Coreferent: Prof.Dr.med.R.Siegert

Inhaltsübersicht

<u>A. Einleitung</u>	Seite
1. Motivation der Untersuchung	1
2. Überblick über einige bisher beschriebene Temperaturgradienten-Inkubatoren	2
 <u>B. Material und Methoden</u>	
1. Mikroorganismen	3
2. Biochemische Prüfung	3
3. Kulturmedien	3
4. Vorkulturen	4
5. Beschreibung des verwendeten Temperaturgradienten- inkubators	5
6. Turbidimetrische Messung des Wachstums	6
 <u>C. Ergebnisse</u>	
1. Biochemische Charakterisierung der untersuchten Stämme	8
2. Kardinaltemperaturen des Wachstums	
a. Temperatur-Wachstumsprofil	8
b. Gesamtwachstum	9
c. Temperaturoptimum des Wachstumsertrages nach 24-stündiger Bebrütung	10
d. Temperaturbereiche des Wachstums	
- 50 %-Bereich des Gesamtwachstums	11
- 10 %-Bereich des Gesamtwachstums	12
- Temperaturminimum	12
- Temperaturmaximum	14
e. Beziehungen zwischen Temperatur-Wachstums- profil und pH-Wert	14
3. Einfluß der Bebrütungstemperatur auf die Wachs- tumsrate	
a. Turbidimetrische Wachstumskurve	15

	Seite
b. Wachstumsrate k	15
c. Arrhenius-typische Darstellung der Temperatur- abhängigkeit von Wachstumsvorgängen	17
d. Temperaturcharakteristik (μ -Wert)	18
4. Variabilität der Wachstumsantwort	20
 D. <u>Diskussion</u>	
1. Probleme der Methodik	
a. Apparatur	22
b. Wert der einzelnen Parameter	
-Kardinaltemperaturen des Wachstums	22
-Wachstumsraten	23
2. Entstehung der Form der "Arrhenius-Kurve"	
a. Enzymatische Einflüsse	23
b. Auswirkungen der Sauerstofflimitierung	24
c. Weitere wachstumslimitierende Faktoren	25
3. Mögliche Ursachen des unregelmäßigen Verlaufes der Temperatur-Wachstumsprofile	25
4. Vergleich der Ergebnisse mit anderen taxonomischen Studien über die <u>Acinetobacter-Gruppe</u>	26
E. Zusammenfassung	31
F. Tabellen	32
G. Abbildungen	41
H. Literatur	53

A. Einleitung

1. Motivation der Untersuchung

Die Taxonomie der oxydase-negativen, obligat aeroben, unbegeißelten gramnegativen Diplobakterien, die unter der nunmehr weithin akzeptierten Bezeichnung Acinetobacter in der Redefinition von BAUMANN et al. (1968) zusammengefaßt werden, ist seit 1965 Gegenstand der Bearbeitung durch ein spezielles Subkomitee der Internationalen Nomenclaturkommission (Subcommittee on Moraxella and Allied Bacteria). Strittig ist neben der Position der Keimgruppe im System der Schizomyceten vor allem die Zahl und die Definition der im Genus Acinetobacter enthaltenen taxonomischen Einheiten von spezifischem und subspezifischem Rang. Nach den Untersuchungen vor allem von MANNHEIM und STENZEL (1962) und STENZEL und MANNHEIM (1963), BAUMANN et al. (1968) und JOHNSON et al. (1970) ist sicher, daß mehr als zwei Species, wie früher angenommen worden war (HENRIKSEN, 1963), existieren.

In der vorliegenden Studie wird der Versuch gemacht, mit Hilfe der bisher nur wenig berücksichtigten Kriterien aus dem Bereich der Temperaturbedürfnisse des Wachstums des Genus Acinetobacter zusätzlich Anhaltspunkte für die phänotypische Gliederung dieser Keimgruppe zu erhalten. Die Untersuchungstechnik beruht wesentlich auf der Verwendung eines modifizierten Temperaturgradienten-Inkubators vom Typ ELLIOT (1963) sowie auf der turbidimetrischen Messung des Wachstums.

2. Überblick über einige bisher beschriebene Temperaturgradienten-Inkubatoren

Temperaturgradienten-Apparate wurden schon 1957 von HENSON, 1956, 1957 und 1958 von HALLDALL und FRENCH und 1961 von SELWYN benutzt. In diesen Arbeiten wurden vor allem die Einflüsse der Bebrütungstemperatur auf physiologische Vorgänge bei Algen in festen Medien studiert. BAUSUM, LANDMANN und MATNEY schlugen 1962 Temperaturgradientenplatten zur Wachstumsbestimmung bei Bakterien und Hefen vor. 1960 beschrieben OFFENHEIMER und DROST-HANSEN und schließlich 1962 CANNEFAX eine Apparatur mit einem Temperaturgradienten, mit der man bakterielles Wachstum in flüssigen Medien untersuchen konnte. Diese Vorschläge waren entweder nur für feste Medien geeignet oder nur für Temperaturbereiche, die über der Umgebungstemperatur lagen. Auch waren einige der angegebenen Konstruktionen zu unhandlich, sehr beeinflussbar durch die Umgebungstemperatur oder aber es traten Schwierigkeiten beim Sterilhalten der Kulturen auf. Außerdem waren die Temperaturgradienten oft nicht linear.

Erst ELLIOT veröffentlichte 1963 und 1965 die Beschreibung eines Temperaturgradienten-Inkubators, der Untersuchungen über einen weiten Temperaturbereich erlaubte und zusätzlich einen annähernd linearen Temperaturgradienten gewährleistete. Da außerdem eine ausreichende Anzahl von Stämmen in einem Versuchsablauf getestet werden kann, erfolgte der Bau des im Folgenden beschriebenen Inkubators in Anlehnung an diese Vorschläge.

B. Material und Methoden

1. Mikroorganismen

In der vorliegenden Studie über die Temperaturbedürfnisse des Genus Acinetobacter wurden die in Tabelle 1 aufgeführten Stämme untersucht.

Die Bakterienkulturen wurden in lyophilisiertem Zustand aufbewahrt. Die Anzucht erfolgte auf Trypticase-Soy-Agar und Kochblutagar. Die Agarplatten wurden im Kühlschrank bei einer Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Die zur Untersuchung verwendeten Klone waren nicht älter als 14 Tage.

2. Biochemische Prüfung

Zur biochemischen Charakterisierung dienten die üblichen enterobakteriologischen Differentialmedien (KAUFMANN, 1954). Weiterhin wurde das Wachstum auf Blutagar (5% Schafblut in Peptonwasser-Agar) und Desoxycholat-Citrat-Agar (nach LEIFSON, 1935, in der Modifikation von Merck AG, Darmstadt, Nr. 2896) geprüft.

3. Kulturmedien

Als Medien wurden verwendet:

a. flüssiges, im Autoklaven für 15 Minuten bei 121°C sterilisiertes komplexes Medium aus 2% Proteose Pepton Nr.3 (Difco) und 0,6% NaCl; der allen Versuchen in komplexem Medium zugrunde liegende Ausgangs-pH-Wert betrug 7,0.

b. flüssige, definierte Medien - sterilisiert mittels Filtration durch G5-Fritten (Schott):

- Bernsteinsäure Dinatriumsalz, wasserfrei (Fluka AG, Buchs, Nr. 14160) 0,05 M;
- Natrium-L(+)-Glutaminat rein (Merck AG, Darmstadt, Nr. 6445) 0,05 M;
- Äthanol pro analysi (Merck AG, Darmstadt, Nr. 972) 0,05 M;

In Mineralmediumbasis (KAUFMANN, 1954).

4. Vorkulturen

Die zu untersuchenden Bakterienstämme wurden als einzelne Klone von Kochblutagarplatten in Kulturröhrchen mit 5 ml des komplexen Mediums überimpft, die für 12 Stunden bei 37° C stehend bebrütet wurden. Die Vorkulturen in den definierten Medien wurden 48 bis 72 Stunden vor Versuchsbeginn angesetzt. Um bei allen Versuchen ein Einsaatvolumen zwischen 0,1 und 1,0 µg Bakterientrockensubstanz/ml zu haben, wurde aus diesen Röhrchen - jeweils in Abhängigkeit von der turbidimetrisch bestimmten Bakterienmenge - 0,2 bis 2,0 ml der Bakteriensuspension in Erlenmeyerkolben mit 100 ml des Mediums überpipettiert. Nach gründlichem Mischen wurden aus dem Erlenmeyerkolben jeweils 4 ml der Suspension in 18 sterile Kulturröhrchen (Länge 11 cm, Ø 13 mm) abgefüllt. Eine auf die Röhrchen aufgesteckte Aluminiumkappe verhinderte das Eindringen fremder Mikroorganismen, ohne die Luftzufuhr und somit das Sauerstoffangebot von Anfang an zu limitieren. Zum Schluß wurden die Röhrchen in die entsprechenden Löcher des Temperaturgradienten-Inkubators gesteckt.

5. Beschreibung des verwendeten Temperaturgradienten-Inkubators

Der bei dieser Arbeit benutzte Temperaturgradienten-Inkubator besteht aus einem in einem Winkel von 45° geneigten Aluminiumblock (120 x 20 x 11 cm), der 5 parallele Reihen mit 18 Löchern zur Aufnahme von Kulturröhrchen aufweist ($\varnothing$ 16 mm, Abstand untereinander 29 mm). Der Temperaturgradient wird in dieser Apparatur durch Wärmeleitung hergestellt; dazu wird durch Thermostate (Ultrathermostat Lauda Typ U-3 und Kryothermostat Lauda Typ K-2-R-D, Dr. R. Wobser KG., Lauda, Germany) am oberen Ende erwärmt und am unteren Ende gekühlt. Die Einstellung des gewünschten Temperaturbereiches erfolgt durch entsprechende Regulierung des kalten und des warmen Wasserbades. Zur Ablesung des Temperaturgradienten während der Einregulierung sind kleine Quecksilberthermometer - in einem Kulturröhrchen mit 4 cm³ Wasser - geeignet. Während des Versuchsablaufes wird die Temperaturkonstanz kontinuierlich überprüft. Zu diesem Zweck sind am Inkubator Widerstandsthermometer (Typ TWE-3) in sechs verschiedenen Positionen angebracht, die mit einem Temperaturpunktschreiber (Arucomp 4100, Hartmann und Braun AG., Frankfurt/Main, Germany) gekoppelt sind.

Um einen Wärmeverlust zu vermeiden, wird der Inkubator vorne, hinten, seitlich und unten durch Polystyrolplatten zwischen dem Aluminiumblock und dem ihn tragenden Metallgehäuse isoliert. Vervollständigt wird die Isolierung von oben her durch einen Plexiglasdeckel von 5 mm Dicke und 57 mm Höhe. Innen wird dieser Deckel durch 8 Querwände in 9 Kammern unterteilt

dadurch wird eine störende Luftzirkulation ausgeschaltet (Abbildung 1).

Da die Flüssigkeitspumpen unter diesen Bedingungen in der Lage waren, einen annähernd konstanten Temperaturgradienten herzustellen und zu erhalten, war eine weitere Isolierung nicht notwendig. So liegt den vorliegenden Versuchen ein annähernd linearer Temperaturgradient von $+15,2^{\circ}\text{C}$ bis $+46,5^{\circ}\text{C}$ zu Grunde mit einer maximalen Abweichung von $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (Abbildung 2).

6. Turbidimetrische Messung des Wachstums

Die Trübungsmessungen zur Bestimmung des Wachstums im komplexen Medium wurden bei den vorliegenden Versuchen nach 4, 8, 12 und 24 Stunden durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Kulturröhrchen aus dem Aluminiumblock entnommen und, um einen Temperaturverlust zu vermeiden, auf ein Reagenzglasgestell aus Holz gebracht. Nach Durchschütteln jedes Röhrchens mit einem Vibrationsmischer (Super-Mixer, Lab-Line Instruments, Cat. Nr. 1214) zur Herstellung einer einheitlichen Suspension konnte nun die Trübungsmessung im Photometer durchgeführt werden.

Zu diesen Trübungsmessungen wurde ein Eppendorf-Photometer (Netheler und Hinz GmbH, Hamburg, Nr. 11633557) mit einem Spezialaufsatz zum Einstecken der Kulturröhrchen (Eppendorf Küvettenhalter Nr. 115320) verwendet. Die Transmission wurde bei einer Wellenlänge von 578 nm gemessen. Zur Eichung der Transmissionskala auf $T = 100\%$ diente ein Kontrollröhrchen mit unbeimpftem sterilem Medium. Gekoppelt mit dem Photometer war ein Schreiber (Eppendorf Kompensationsschreiber 4412), der über einen Verzögerungs- und Meßzeit-

- -

geber (Entwicklungslabor für Elektronik der Universität Marburg, Marburg/Lahn) für jedes Röhrchen die Transmission für 8 sec. auf besonderes Registrierpapier aufzeichnete.

Durch häufigen Gebrauch der Kulturröhrchen sind Kratzer unvermeidlich. Dadurch aber verliert die Trübungsmessung im Photometer an Genauigkeit. Um diese Fehlerquelle weitgehend zu beseitigen, wurden vor Versuchsbeginn extinktionsgleiche Röhrchen ausgewählt und markiert.

Nach der 24-Stundenmessung wurde aus dem Röhrchen mit dem größten Trübungswert sowie aus Röhrchen mit ungewöhnlich starkem oder geringem Wachstum eine Blutagarplatte zur Reinheitsprüfung beimpft.

Für die Bestimmung der Temperaturbedürfnisse des Wachstums in definierten Medien war eine längere Versuchsdauer notwendig. Hier wurden die Messungen nach 4, 8, 12, (16), 24, 28, 32, 36, 48, 52, 60 und 72 Stunden durchgeführt.

C. Ergebnisse

1. Biochemische Charakterisierung der untersuchten Stämme

Es wurden insgesamt 40 Acinetobacterstämme mit folgenden Eigenschaften untersucht: kokkoide Diplobakterien, streng aerob, unbeweglich, gutes Wachstum mit geringen Nährbodenansprüchen, keine Pigmentbildung; cytochrom-oxydase-negativ, keine Indolbildung, keine Nitratreduktion. Die Ergebnisse der Untersuchungen in der "Bunten Reihe" sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Auf Grund ihres biochemischen Verhaltens sind in dieser Tabelle die 40 Stämme in 4 Untergruppen gegliedert und diese den Einteilungsvorschlägen von MANNHEIM und STENZEL (1962) und STENZEL und MANNHEIM (1963), BAUMANN et al. (1968) und JOHNSON et al. (1970) gegenübergestellt.

2. Kardinaltemperaturen des Wachstums

a. Temperatur-Wachstumsprofile

Das Wachstum wurde durch die photometrische Bestimmung der Transmission bei 578 nm ermittelt. Die Beziehungen zwischen Transmission und Bakterientrockengewicht wurden nach Abbildung 3 ermittelt.

Trägt man die durch Messung im Photometer erhaltenen Trübungswerte gegen die Bebrütungstemperatur auf, so erhält man Temperatur-Wachstumsprofile, wie sie in Abbildung 4 dargestellt sind. Parameter des Bakterienwachstums, die sich aus dem Temperatur-Wachstumsprofil entnehmen lassen, sind: Gesamtwachstum, Temperaturoptimum des Wachstumsertrages,

Temperaturbereiche des Wachstums (50%-Bereich des Gesamtwachstums, 10%-Bereich des Gesamtwachstums, Temperaturminimum, Temperaturmaximum) (Abbildung 4a). Bei den in der vorliegenden Arbeit getesteten Stämmen der Acinetobacte-gruppe ergaben sich auf Grund der Temperatur-Wachstumsprofile drei verschiedene Wachstumsgruppen, die in Abbildung 5 dargestellt sind.

b. Gesamtwachstum

Das Gesamtwachstum ist als die Differenz zwischen der anfänglichen und der maximalen Zellmasse definiert. Aber aus praktischen Erwägungen wird in dieser Arbeit als Gesamtwachstum der höchste Wachstumsertrag (in mg Bakterientrockengewicht/ml) nach einer festgelegten Bebrütungszeit angegeben. In Tabelle 3 ist das Gesamtwachstum der untersuchten Stämme nach 24 Stunden Inkubationszeit im komplexen Medium angegeben. Die Messwerte in Tabelle 4 beziehen sich auf das Gesamtwachstum in Abhängigkeit vom Substrat nach 24, 48 und 72 Stunden.

Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, nimmt von Stamm 1 bis 34 das Gesamtwachstum annähernd kontinuierlich zu. Stamm 1 bis 6 zeigen ein relativ geringes Wachstum und die Stämme 20 bis 34 einen hohen Wachstumsertrag; die Stämme 7, 8 bis 18, 19, 35, 36, 39 und 40 nehmen eine Mittelstellung ein. Die Daten in Tabelle 4 demonstrieren ein besseres Wachstum der Acinetobacter-gruppe im komplexen Medium als in den definierten Medien. In den definierten Medien wachsen die Stämme in Ammoniumäthanol am besten, Stamm 13 und 34 wachsen in Na-Glutaminat etwas besser als in Succinat,

bei Stamm 1 liegen die Verhältnisse entgegengesetzt. Auch hier ist zu erkennen, daß Stamm 1 als Repräsentant der Stämme 1 bis 7 langsamer wächst und ein geringeres Gesamtwachstum erreicht als Stamm 34, der Vertreter der Stämme 19 bis 34; Stamm 13 nimmt eine Mittelstellung ein.

c. Temperaturoptimum des Wachstumsertrages nach 24-stündiger Bebrütung

Ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung von Wachstumskurven stellt das Temperaturoptimum dar. Was das Temperaturoptimum aber ist und wie man es am besten definiert, wird verschieden beantwortet. Nach OGINSKY und UMBREIT (1959) liegt das Temperaturoptimum bei der Temperatur vor, bei welcher das Bakterium am besten und schnellsten wächst. Da jedoch jeder biologische Prozeß in einem Organismus sein eigenes charakteristisches Temperaturoptimum hat, sind die empfohlenen Parameter hierfür unterschiedlich.

Heute ist es allgemein gebräuchlich, die Temperatur der höchsten Zuwachsrates als Optimaltemperatur zu bezeichnen (INGRAHAM, 1962). An Hand der Temperatur-Wachstumsprofile lassen sich jedoch auch optimale Temperaturbereiche für den Wachstumsertrag bestimmen. Bei den hier getesteten Stämmen ergaben sich danach die Werte in Abbildung 6. Die meisten Daten in dieser Abbildung geben nicht eine ganz bestimmte Temperatur an, sondern einen Temperaturbereich. Dies ist darauf zurückzuführen, daß (a) bei den selben Stämmen Kulturen verschiedener Inkubationstemperaturen annähernd dasselbe Temperaturoptimum erreichen; (b) die Profile oft stärkere Schwankungen aufweisen; (c) ein Stamm oft mehrfach in verschiedenen Versuchsreihen getestet

wurde; dabei traten geringgradige Abweichungen auf, die zu einem auch die Extremwerte erfassenden Temperaturbereich zusammengeschlossen wurden. Als Mittelwert konnte für die Stämme 1 bis 7 ein Temperaturoptimum des wachstumsertrages von $32,3^{\circ}\text{C}$ errechnet werden mit einer Standardabweichung (bestimmt mit der PETERS Formel aus SQUIRES, 1971) von $\pm 1,0$, für die Stämme 8 bis 18 von $32,7^{\circ}\text{C} \pm 0,6$ und für die Stämme 19 bis 34 von $36,7^{\circ}\text{C} \pm 0,5$.

Das Temperaturoptimum des wachstumsertrages in den definierten Medien ist in Tabelle 5 angegeben.

Temperaturoptimum des Wachstumsertrages heißt nicht, daß bei anderer Temperatur bebrütete Kulturen nicht auch eine hohe absolute Menge an Zellmasse erreichen können. Nur ist der benötigte Zeitraum größer als bei Kulturen, die im Bereich des Temperaturoptimums wachsen.

Bei einer Analyse des Temperaturoptimums des wachstumsertrages zeigt sich folgende Tendenz: je höher das Gesamtwachstum eines Stammes liegt, desto höher liegt auch dieses Temperaturoptimum; wächst ein Stamm langsam, so erreicht er seinen höchsten Wachstumsertrag bei niedrigeren Temperaturen. Weiter ist zu beobachten (Vergleich der 4 - und 24-Stundenwerte), daß sich das Temperaturoptimum des wachstumsertrages nach längerer Zeit auf einen niedrigeren Wert zu bewegt. Das Temperaturoptimum der Wachstumsraten wird weiter unten dargestellt.

d. Temperaturbereiche des Wachstums
- 50%-Bereich des Gesamtwachstums

Bei der Frage, bei welchen Kultivierungstemperaturen

50 % des Gesamtwachstums überschritten wird, zeigt sich folgender Zusammenhang: bei Stämmen mit niedrigem Wachstumsertrag nach 24 Stunden liegen die diesen Wert überschreitenden Kulturen mehr auf der kalten Seite der Temperaturskala, um sich mit zunehmendem Wachstumsertrag auf die warme Seite zu bewegen. Dies gilt besonders für die Minimaltemperatur des 50%-Bereiches; bei der Maximaltemperatur des 50%-Bereiches sind diese Unterschiede weniger deutlich ausgeprägt (Abbildung 6).

- 10%-Bereich des Gesamtwachstums

Auch der Temperaturbereich, innerhalb dessen 10 % des Gesamtwachstums überschritten werden, ist abhängig vom Wachstumsertrag. Er zeigt prinzipiell das gleiche Verhalten wie der 50%-Bereich.

Allgemein kann man für den 10%- und 50%-Bereich des höchsten Wachstumsertrages feststellen: (a) diese Parameter sind abhängig vom Wachstumsertrag; bei niedrigem Wachstumsertrag weisen sie einen niedriger liegenden Temperaturbereich auf als bei hohem Wachstumsertrag; (b) der 50%-Bereich liegt innerhalb des 10%-Bereiches; (c) das Temperaturoptimum des Wachstumsertrages liegt immer im 50%-Bereich; (d) mit steigendem Wachstumsertrag verschieben sich die Minimaltemperaturen der Bereiche schneller als die Maximaltemperaturen zur warmen Seite hin.

- Temperaturminimum

Das Temperaturminimum des wachstums liegt vor, wenn die Bakterien auf Grund eines unter dem Temperatur-optimum liegenden Temperatureinflusses gerade zum

Wachstum fähig sind (Daß im Gegensatz zu chemischen Reaktionen bei bakteriellem Wachstum ein echtes Temperaturminimum besteht, führten 1936 FOTER und RAHN aus).

Das Temperaturminimum ist im Temperaturgradienten-Inkubator schwierig nachzuweisen. Denn in der unmittelbaren Nähe des Temperaturminimums ist die Teilungsrate so gering, die Generationszeit so lange, daß in flüssigen Medien eine meßbare Trübung erst nach langdauerndem Versuchsablauf eintritt. INGRAHAM (1958) beobachtete bei psychrophilen Bakterien eine Generationszeit bis zu 103 Stunden. Der zweite Grund, der in der vorliegenden Arbeit gegen die Verwendung des Temperaturminimums als Vergleichsparameter spricht, besteht in dem Bereich des Temperaturgradienten des Inkubators. So beträgt bei den hier ausgeführten Versuchen die niedrigste Temperatur des Inkubators $15,2^{\circ}\text{C}$, eine Temperatur, bei der gutes Wachstum erfolgte. Auch die Minimaltemperatur für 10% des Gesamtwachstums nach 24 Stunden liegt bei den meisten hier getesteten Stämmen außerhalb des Temperaturgradienten des Inkubators. Bei der Minimaltemperatur für 50% des Gesamtwachstums zeigt sich mit zunehmendem Wachstumsertrag eine Verlagerung auf höhere Temperaturen.

Diese Aussagen beziehen sich auf das Wachstum im komplexen Medium. Bei der Prüfung des Temperaturminimums in den definierten Medien ergeben sich folgende Zusammenhänge: Stamm 13 zeigt in Succinat-Medium nach 72 Stunden bei $15,2^{\circ}\text{C}$ einen Wachstumsertrag von $0,0075$ mg Bakterientrockengewicht/ml (Ausgangseinsaat bis maximal $0,001$ mg/ml). Wachstum ist hier nachzuweisen, doch sehr langsam; die Generationszeit dauert so lange, daß das Temperaturminimum nicht weit unter $15,2^{\circ}\text{C}$

liegen kann.

- Temperaturmaximum

Im Gegensatz zum Temperaturminimum ist das Temperaturmaximum in dieser Arbeit ein entscheidender Faktor.

Das Temperaturmaximum ist die höchste Temperatur, bei der biologische Prozesse - und damit Wachstum - möglich sind. In Abbildung 6 zeigen sich beim Temperaturmaximum deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen. So wachsen die Stämme 1 bis 18, 39 und 40 nicht mehr bei $44,5^{\circ}\text{C}$, während die Stämme 19 bis 38 noch bei oder über $44,5^{\circ}\text{C}$ kultivierbar sind. Das genaue Temperaturmaximum der Stämme 20 bis 38 konnte wegen des Temperaturbereiches des Inkubators (Maximalwert: $46,4^{\circ}\text{C}$) nicht bestimmt werden.

Die Maximaltemperaturen für 10 % und 50 % des Gesamtwachstums sind unabhängig vom Wachstumsertrag. Sie verlagern sich wie die Minimaltemperaturen mit zunehmendem Wachstumsertrag auf höhere Temperaturen.

e. Beziehungen zwischen Temperatur-Wachstumsprofil und pH-Wert

In engem Zusammenhang stehen Temperatur-Wachstumsprofil und pH-Wert, wie Abbildung 7 verdeutlicht. Im komplexen Medium, im Succinat-Medium und Glutaminat-Medium wird der pH-Wert bei zunehmendem Wachstum zur basischen Seite hin verschoben. Als höchster alkalischer Wert wurde ein pH von 8,18 gemessen. In Ammoniumäthanol-Medium wird der pH-Wert zur sauren Seite verschoben. Stamm 34 mit einem Wachstumsertrag von 0,680 mg Bakterientrockengewicht/ml nach 72 Stun-

den wies dabei einen pH-Wert von 4,50 auf; Ausgangswert: 6,90. Stamm 1 ließ eine ähnliche Tendenz erkennen, aber schwächer ausgeprägt. Eine lineare Beziehung zwischen Zellmasse (mg/ml) und Säure- beziehungsweise Alkalibildung war jedoch nicht zu erkennen.

3. Einfluss der Bebrütungstemperatur auf die Wachstumsrate

a. Turbidimetrische Wachstumskurve

Die Wachstumsrate läßt sich aus der turbidimetrischen Wachstumskurve ableiten. Die Wachstumskurve erhält man bei Auftragung der Trübung einer Kultur gegen die Zeit. Sie läßt sich in bestimmte Phasen unterteilen. Die Nomenklatur dieser Abschnitte ist nicht ganz einheitlich (LAMANNA und MALLETT, 1965). MONOD (1942) schlägt folgende Unterteilung vor:

- Latenzphase
- Phase des beschleunigten Wachstums
- Phase des exponentiellen Wachstums
- Phase des retardierten Wachstums
- Stationäre Phase
- Absterbephase

Die stationäre Phase und die Absterbephase sind turbidimetrisch nicht quantitativ zu erfassen, da Zellaggregation und Lyse einen Trübungsabfall verursachen.

b. Wachstumsrate k

Die Steigung der Geraden der exponentiellen Wachstumsphase bei halblogarithmischer Auftragung ist ein Maß für die Wachstumsrate k. Die Wachstumsrate k ist die Zahl der Verdoppelungen der Zellmasse pro Zeiteinheit. k läßt sich aus den Zeiten t_1 und t_2 und den

Trübungen x_1 und x_2 (in mg Trockensubstanz/ml) nach MONOD (1942) berechnen durch die Formel

$$(1) k = \frac{dx}{dt} \cdot \frac{1}{x}$$

Durch Integrierung dieses Differentialquotienten entsteht

$$(2) x = x_1 \cdot e^{kt}$$

$$(3) k = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1}$$

oder bezogen auf den dekadischen Logarithmus zur Basis 10

$$(4) k = \frac{\log_{10} x_2 - \log_{10} x_1}{\log_{10} e (t_2 - t_1)}$$

wobei $\log_{10} e = 0,4343$ ist; oder

$$(5) k = \frac{2,303 (\log_{10} x_2 - \log_{10} x_1)}{t_2 - t_1}$$

Die Wachstumsrate k wird angegeben in h^{-1} . Damit ist sie ein Maß für die Geschwindigkeit des Zellmassenzuwachses in der exponentiellen Wachstumsphase.

Abbildung 8 zeigt turbidimetrische Wachstumskurven des Stammes 34 bei verschiedenen Kultivierungstemperaturen. Der Kurvenverlauf zeigt weder eine Latenzphase noch die Phase des beschleunigten Wachstums. Das Wachstum beginnt mit seiner steilsten Steigung, mit seiner größten Wachstumsrate. Diese kann jedoch unter den in der stehenden Batch-Kultur herrschenden Bedingungen, vor allem infolge von Sauerstofflimitierung, nicht beibehalten werden. Dadurch entstehen

bei der Auswertung Schwierigkeiten. Denn trotz der stärksten Massenzunahme ist die Trübung zu Beginn noch so gering, daß methodische Einflüsse eine wirk-
same Störgröße werden können. Wenn man aber alle durch die photometrischen Messungen erhaltenen Werte graphisch aufzeichnet und als Nullpunkt die hier vor-
gelegte Einsaat von 10^{-9} g annimmt, kann man durch Verbindung der einzelnen Punkte eine für vergleichende Studien zufriedenstellende Kurve erhalten. Die für die Berechnung der Wachstumsrate k notwendigen Werte wurden durch Extrapolation der größten Steigung erhalten. Die Steigungsberechnung erfolgte nach Formel 5.

c. Arrhenius-typische Darstellungen der Temperatur-
abhängigkeit von Wachstumsvorgängen

Allgemein gebräuchlich zur graphischen Darstellung der Temperaturabhängigkeit von Wachstumsvorgängen ist die Verwendung eines semilogarithmischen Maßstabes. Wenn man den Logarithmus der Massenzuwachsrates gegen den reziproken Wert der absoluten Temperatur aufträgt, so erhält man eine Kurve - im weiteren als "Arrhenius-Kurve" bezeichnet -, auf die man die 1889 von ARRHENIUS erarbeiteten Prinzipien über den Einfluß der Temperatur auf chemische Reaktionen anwenden kann.

In den Abbildungen 9, 10 und 11 ist der Logarithmus der Massenzuwachsrates gegen den reziproken Wert der absoluten Temperatur aufgetragen. Die dabei für die Stämme 1, 13 und 34 resultierenden "Arrhenius-Kurven" lassen erkennen: (a) unterschiedliche Größen der Massenzuwachsrates; am höchsten liegen sie beim Wachstum im komplexen Medium, danach folgen die Wachstumsraten in Glutaminat-Medium; die "Arrhenius-Kurven" in Succin-

nat-Medium und Ammoniumäthanol-Medium überschneiden sich so, daß der gerade Kurvenanteil in Succinat-Medium tiefer, das Temperaturoptimum aber höher liegt; (b) deutliche Unterschiede des Temperaturoptimums in Abhängigkeit von Stamm und Substrat (Tabelle 6); (c) unterschiedliche Temperaturcharakteristik des Wachstums.

d. Temperaturcharakteristik (μ -Wert)

Die Neigung des linearen Anteils der abfallenden "Arrhenius-Kurve" - die exponentielle Wachstumsphase - kann, wie INGRAHAM (1958) zeigte, nach ARRHENIUS mathematisch bestimmt werden. Dabei ergibt sich die Temperaturcharakteristik, heute als μ -Wert bezeichnet. Der μ -Wert wird nach VAN'T HOFF und ARRHENIUS berechnet durch die Gleichung

$$(1) v = A \cdot e^{-\mu/G \cdot T}$$

wobei v die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion darstellt, G die Gaskonstante (1,9846 Kalorien/Grad/Celsius/Mol), T die absolute Temperatur und A eine Konstante. Den μ -Wert bezeichnete ARRHENIUS anfangs als Aktivierungsenergie ($\Delta H^\#$). Nimmt man von (1) den Logarithmus, so erhält man (nach INGRAHAM, 1962)

$$(2) \log_{10} v = \frac{-\mu}{2,303 \cdot G \cdot T} + C$$

Trägt man den $\log_{10} v$ gegen $\frac{1}{T}$ graphisch auf, so ergibt sich für die enzymatisch katalysierte chemische Reaktion eine Gerade mit einer durch den μ -Wert charakterisierten Steigung über einen weiten Temperaturbereich. Beim Wachstum von Bakterien gilt dies nur für einen begrenzten Temperaturbereich (INGRAHAM und BAILEY, 1959).

Bei "Arrhenius-Kurven" wird v allgemein durch die Wachstumsrate R ersetzt :

$$(3) \log_{10} R = \frac{-\mu}{2,303 \cdot G \cdot T} + C$$

$$\text{oder } (4) \ln R = \frac{-\mu}{G \cdot T} + C \quad (\text{oder } \ln A)$$

Durch Differenzierung von (4) ergibt sich

$$(5) \frac{d \ln R}{d T} = \frac{\mu}{G \cdot T^2}$$

Setzt man μ in Relation zu den Wachstumsraten R_1 und R_2 bei der absoluten Temperatur T_1 und T_2 , erhält man durch Integrieren zwischen den Grenzwerten, durch Umwandlung des natürlichen Logarithmus in den dekadischen Logarithmus und durch Auflösung nach μ

$$(6) \mu = \frac{2,303 \cdot G \cdot T_1 \cdot T_2 \cdot \log \left(\frac{R_2}{R_1} \right)}{T_2 - T_1}$$

R_2 ist die Wachstumsrate bei einer absoluten Temperatur T_2 und R_1 die Wachstumsrate bei einer absoluten Temperatur T_1 . Die additive Konstante in Gleichung (2) kann unberücksichtigt bleiben, da der logarithmische Unterschied der wachstumsraten unabhängig von der Basis ist.

Der μ -Wert wird demnach definiert als die Anzahl von Kalorien, die erforderlich ist, um alle Moleküle in einem Mol in einen solchen Energiezustand zu überführen, der für die jeweilige Reaktion erforderlich ist (LAMANNA und MALLETTE, 1965).

In der vorliegenden Arbeit wurden die μ -Werte nach Gleichung (6) berechnet. Aus ihr resultieren die in Tabelle 7 zusammengefaßten μ -werte. Bei Stamm 1 liegen die μ -werte trotz unterschiedlicher Medien bei

23 - 24 000; die Geraden dieser "Arrhenius-Kurven" laufen annähernd parallel. Eine Ausnahme bildet die "Arrhenius-Kurve" in Ammoniumäthanol-Medium mit einem μ -Wert von 14 700. In der Nähe dieses Wertes (16 100 und 15 800) liegen bei Stamm 13 die vom komplexen Medium und vom Succinat-Medium abhängigen μ -Werte, während der mit Glutaminat zusammenhängende Wert 29 000 beträgt. Auch bei Stamm 34 liegt der μ -Wert der "Arrhenius-Kurve" im Glutaminat-Medium mit 27 000 hoch; in Ammoniumäthanol-Medium und Succinat-Medium errechnen sich μ -Werte von 22 600 und 22 400; am tiefsten liegt mit 14 900 der μ -Wert der "Arrhenius-Kurve" im komplexen Medium.

4. Variabilität der Wachstumsantwort

Um genauere Werte zur Bestimmung der Wachstumsraten zu erhalten und um den Bereich der Streuung zu erfassen, wurden die Stämme 1, 13 und 34 mehrfach im Inkubator getestet. Dazu wurden Kulturen nur eines Stammes im komplexen Medium in einem Versuchsansatz untersucht. Die Messungen erfolgten stündlich, wobei jeweils die Transmission nur einer Reihe zu bestimmen war. Jede Reihe wurde so in einem 5-Stundenrhythmus gemessen mit einer nächtlichen Pause von 10 Stunden. Insgesamt wurde das Wachstum bis zur 48. Stunde verfolgt.

Als nicht variabel erwies sich das Temperaturmaximum. Das Temperaturoptimum des Wachstumsertrages dagegen zeigte Schwankungen, deren Extremwerte in Abbildung 6 berücksichtigt wurden. Bei Stämmen mit einem hohen Wachstumsertrag nach 24 Stunden wiesen oft mehrere bei verschiedenen Temperaturen bebrütete Kulturen den gleichen Ertrag auf; das Temperatur-Wachstumspro-

fil bildete ein Plateau. Das Temperaturoptimum des Wachstumsertrages kann deshalb oft nur als Temperaturbereich angegeben werden. Dennoch lassen sich an Hand der Mittelwerte und ihrer Standardabweichung Unterschiede erkennen.

Ebenfalls variabel war der höchste Wachstumsertrag nach einem festgelegten Zeitraum. Wie Untersuchungen eines Klonen in verschiedenen Versuchsreihen mit Messungen zum gleichen Zeitpunkt zeigten, trat eine Streuung von $\pm 5\%$ um den Mittelwert (in mg Bakterientrockengewicht/ml) auf.

Bei Stämmen mit sehr gutem Wachstum im komplexen Medium und beim Wachstum in den definierten Medien nahm nach längerer Inkubationszeit die Trübung geringgradig ab.

Das in Abbildung 4 dargestellte Temperatur-Wachstumsprofil zeigt in seinem aufsteigenden und abfallenden Anteil einen gleichmäßigen Verlauf. Die Temperaturwachstumsprofile der Acinetobactergruppe sind häufig aber nicht "glatt" sondern durch einen "gezackten", unregelmäßigen Profilverlauf gekennzeichnet. Die Abweichungen treten bevorzugt im ansteigenden Anteil des Temperaturwachstumsprofiles auf und zwar bei Kultivierungstemperaturen zwischen 24,2 und 31,5° C. Dabei handelt es sich - zumindest bei einigen Stämmen - um keinen Zufallsbefund und auch nicht um methodische Beeinflussungen. Denn diese Abweichungen traten bei verschiedenen Messungen und auch bei Untersuchungen verschiedener Klone eines Stammes immer wieder auf. Eine erneute Untersuchung dieser langsamer wachsenden Kulturen ergab keine signifikanten Veränderungen des Temperaturwachstumsprofiles. Das geringere Wachstum war aber bei derselben Kultivierungstemperatur erneut nachzuweisen.

D. Diskussion

1. Probleme der Methodik

a. Apparatur

Mit der Verwendung eines Temperaturgradienten-Inkubators steht eine gute Methode zur Verfügung, die Temperaturbedürfnisse von Mikroorganismen zu untersuchen. Selbst wenn der Temperaturgradient nicht absolut linear ist, kann dies bei der Auswertung der Ergebnisse berücksichtigt werden, sofern der Gradient stabil ist.

b. Wert der einzelnen Parameter

- Kardinaltemperaturen des Wachstums

Ein konstantes und damit taxonomisch gut verwertbares Kriterium ist das Temperaturmaximum.

Variabel verhält sich der Wert des höchsten Wachstumsertrages in einer bestimmten Zeit. Deshalb ist das Gesamtwachstum kein ausreichendes Kriterium zur taxonomischen Einordnung. Doch in Verbindung mit anderen Parametern kann es gut in eine taxonomische Aussage eingeordnet werden.

Das Temperaturoptimum des Wachstumsertrages ist vom Gesamtwachstum abhängig. So liegt bei Stämmen mit niedrigem Gesamtwachstum dieses Optimum niedriger als bei Stämmen mit einem hohen Wachstumsertrag. Bei dem Temperaturoptimum des Wachstumsertrages besteht die Tendenz, sich bei Stämmen mit hohem Ertrag und großer Zuwachsrates auf höhere Temperaturen zu verlagern und hier zusätzlich ein Plateau zu bilden. Ta-

xonomisch ist dieser Parameter schlecht zu verwerten, da es zu viele Ausnahmen gibt und die Bestimmung dieser Werte nicht sehr genau ist. Doch zeigen sich anhand der Mittelwerte und ihrer Standardabweichungen Unterschiede, die - im Zusammenhang mit anderen Parametern - bedingt zu verwerten sind.

- Wachstumsraten

Die Bestimmung von Wachstumsraten ist in statischen Kulturen in strikt aeroben Mikroorganismen problematisch. So entspricht der exponentielle Teil der Wachstumskurve trotz Verwendung eines semilogarithmischen Maßstabes durch die zunehmende Sauerstofflimitierung nicht der zu erwartenden Geraden. Dementsprechend schwierig und mit Fehlern belastet ist die Berechnung der Wachstumsrate k und der hier von ihr abhängigen "Arrhenius-Kurven" und μ -Werte. Diese Werte sind demzufolge nur Annäherungswerte. Als relative Aussage und für Vergleiche untereinander sind sie jedoch durchaus zu verwerten.

2. Entstehung der "Arrhenius-Kurven"

a. Enzymatische Einflüsse

Die Form der "Arrhenius-Kurve" ist nach HINSHELWOOD (1966) durch einen synthetischen und einen degenerativen Prozeß bedingt. Bei niedrigen Temperaturen überwiegt der synthetische Prozeß, die Kurve kann somit ansteigen; bei höheren Temperaturen wird der Einfluß des degenerativen Prozesses schließlich so stark, daß die "Arrhenius-Kurve" bis zum Temperaturmaximum absinkt. Neuere Befunde deuten darauf hin, daß der schnelle Abfall der "Arrhenius-Kurve" durch eine ver-

minderte Enzymaktivität bedingt ist. So demonstrierten RON und SHANI (1971), daß bei E. coli bei 40 bis 45° C das Enzym Homoserin-Transsuccinylase direkt gehemmt wird.

b. Auswirkungen der Sauerstofflimitierung

Einen großen Einfluß auf das Wachstum in Abhängigkeit von der Temperatur hat bei den vorliegenden strikt aeroben Bakterien der Sauerstoffbedarf. So ist - wie SINCLAIR und STOKES (1963) durch direkte elektrometrische O₂-Bestimmungen in Bakterienkulturen bestätigen konnten - die Löslichkeit des Sauerstoffes bei niedrigen Temperaturen größer als bei höheren. Weiterhin steigt durch die Zellvermehrung der O₂-Bedarf. Da bei Temperaturen um 30 bis 40° C bei der Acinetobactergruppe das Wachstum am schnellsten ist, ist der Bedarf O₂ hier am größten. Das Sauerstoffangebot ist aber wegen des abnehmenden pO₂ bei höheren Temperaturen reduziert. So tritt eine zunehmende Sauerstofflimitierung gerade dort ein, wo das Wachstum am schnellsten erfolgt. Dies scheint die Verschiebung des Temperaturoptimums des Wachstumsertrages innerhalb eines Stammes auf niedrige Temperaturen zu erklären (MONOD, 1942; SINCLAIR und STOKES, 1963). Der Einfluß der Bebrütungstemperatur überwiegt aber die Auswirkungen der Sauerstofflimitierung. So haben die Stämme mit hohen Erträgen auch höhere Maximal- und Optimaltemperaturen.

Auch der maximale Wachstumsertrag ist vom Sauerstoffangebot abhängig. So wiesen SINCLAIR und STOKES (1963) nach, daß in stationären Kulturen von Pseudomonas fluorescens die maximale Zellausbeute bei 10°C größer war als bei 30° C, obwohl das Wachstum

bei 30° C bedeutend schneller vorstatten ging. DOWNEY (1966) zeigte, daß der Wachstumsertrag in komplexen Medien vom pO_2 während des Wachstums abhängig ist.

c. Weitere wachstumslimitierende Faktoren

Ein weiterer wachstumslimitierender und damit den Verlauf der "Arrhenius-Kurve" beeinflussender Faktor entsteht durch das Substratangebot. So zeigt sich im komplexen Medium ein besseres Wachstum als in den definierten Medien; auch die Massenzuwachsraten sind im komplexen Medium höher als beim substratlimitierten Wachstum. Schließlich seien als wachstumslimitierende Faktoren noch Stoffwechselprodukte wie z. B. die Akkumulation von Säure oder Alkali erwähnt. Die Verminderung der maximalen Trübung nach einer längeren Inkubationszeit kann durch Bakteriolysen und Zellaggregation bedingt sein.

3. Mögliche Ursachen des unregelmäßigen Verlaufes der Temperatur-Wachstumsprofile

Abweichungen vom glatten Verlauf der Temperatur-Wachstumsprofile wurden bei der Acinetobactergruppe bisher noch nicht beschrieben.

Bei dem langsameren Wachstum einzelner Kulturen sind genetische Veränderungen zu diskutieren. Doch unterschied sich das Temperatur-Wachstumsprofil bei einer Überprüfung der langsamer wachsenden Kulturen nicht signifikant von dem der unauffällig wachsenden Kulturen. Es ist also fraglich, ob es sich hierbei um eine echte temperatursensitive Mutante handelt. Eine andere Erklärungsmöglichkeit für dieses Phänomen liegt in einer Veränderung der Wasserstruktur. So be-

schrieben DAVLEY und MILLER (1966) bei Streptococcus faecalis eine reduzierte Zellvermehrung bei Temperaturen um 30° und führten dies auf eine Änderung der Wasserstruktur zurück.

4. Vergleich der Ergebnisse mit anderen taxonomischen Studien über die Acinetobactergruppe

Durch vorausgegangene Untersuchungen scheint es gerechtfertigt (MANNHEIM und STENZEL 1962 und STENZEL und MANNHEIM 1963, BAUMANN et al. 1968 und JOHNSON et al. 1970), die Acinetobactergruppe in mehrere Untergruppen einzuteilen. So finden sich bei MANNHEIM und STENZEL (1962) sich biochemisch unterschiedlich verhaltende Gruppen, während in der Arbeit von BAUMANN et al. (1968) zwei Obergruppen mit 3 beziehungsweise 4 Untergruppen zu erkennen sind. JOHNSON et al. (1970) schließlich kommen auf Grund ihrer Ergebnisse über DNA-Homologien auf eine Unterteilung in 6 Gruppen.

In der vorliegenden Arbeit über die Temperaturbedürfnisse des Genus Acinetobacter können an Hand der maximalen Kultivierungstemperaturen zwei Obergruppen unterschieden werden. Die erste Gruppe (I), durch die Stämme 1 bis 18, 39 und 40 repräsentiert, zeigt bei 44,5° C kein Wachstum mehr. Die zweite Gruppe (II) mit den Stämmen 19 bis 38 ist noch bei 44,5° C und darüber kultivierbar.

Bei Vergleichen dieser Einteilung mit den anderen zitierten Studien ergibt sich - an Hand der gemeinsamen untersuchten Stämme - eine Übereinstimmung mit der Gruppeneinteilung A bzw. B von BAUMANN et al. (1968) und den Gruppen 1 bzw. 2,3,4,5,6 von JOHNSON et al. (1970). Vergleiche mit der auf morphologischen

und biochemischen Eigenschaften beruhenden Einteilung von MANNHEIM und STENZEL (1962) und STENZEL und MANNHEIM (1963) zeigen, daß die Vertreter des A. metacaligenes, A. haemolyticus und A. conjunctivae ihr Temperaturmaximum unter 44,5° C haben, während A. mucosus noch bei oder über 44,5° C wächst. Uneinheitlich in Bezug auf das Temperaturmaximum verhalten sich die Stämme 35 bis 40, die nach den bei MANNHEIM und STENZEL (1962) angegebenen Kriterien als A. citroalcaligenes zu kennzeichnen sind. Auch BAUMANN et al. (1968) trennen diese Gruppe auf, wobei Stamm 35 bis 38 in Gruppe A und Vergleichsstamm 39 in Gruppe B eingeordnet werden. Diese Aufteilung wird durch das unterschiedliche Temperaturmaximum bestätigt. JOHNSON et al. (1970) konnten nachweisen, daß Vergleichsstamm 39 weniger als 50 % DNA-Homologien mit den anderen Vergleichsstämmen aufwies, während Stamm 38 der Gruppe 1 und Stamm 36 der Gruppe 5 zugeordnet werden.

Der höchste Wachstumsertrag nach 24 Stunden der Gruppe mit einem unter 44,5° C liegenden Temperaturmaximum (I) zeigt einen Maximalwert von 0,270 bis 0,315 mg Zellmasse/ml (eine Ausnahme ist Stamm 18, der mit 0,95 mg/ml diesen Wert überschreitet). Weiter ist zu erkennen, daß die Stämme 1 bis 6, die sich bei den im Rahmen dieser Arbeit geprüften Kriterien biochemisch einheitlich verhalten, einen geringeren Wachstumsertrag zeigen als die Stämme 8 bis 18. Somit kann Gruppe (I) mit Hilfe des höchsten Wachstumsertrages nach 24 Stunden Bebrütungszeit in zwei Untergruppen aufgegliedert werden. Dabei entspricht Gruppe (1) (Stamm 1 bis 6) der Gruppe B2 von BAUMANN et al. (1968), der Gruppe 5 von JOHNSON et al. (1970) und A. metalcaligenes bei MANNHEIM und STENZEL (1962);

Gruppe (2) (Stamm 8 bis 18) entspricht Gruppe B3 + B4 bei BAUMANN et al. (1968), Gruppe 2 und 3 bei JOHNSON et al. (1970) und A. haemolyticus und A. conjunctivae bei MANNHEIM und STENZEL (1962). Auch das unterschiedliche Verhalten der ausgewählten Stämme 1 und 13 in den definierten Medien läßt diese Unterteilung sinnvoll erscheinen. Stamm 7, in seinem biochemischen Verhalten mit Stamm 1 bis 6 übereinstimmend, folgt in seinem Wachstum der Untergruppe (2). Diese Ausnahme deutet an, daß der Parameter "höchster Wachstumsertrag" nicht überzubewerten ist, daß eine Einteilung mit diesem Kriterium nur Annäherungswerte geben kann.

Der höchste Wachstumsertrag der Gruppe mit einem Temperaturmaximum bei oder über 44,5° C (II) verhält sich uneinheitlich. Wenn man jedoch 0,280 mg Zellmasse/ml nach 24 Stunden als Grenze der Einteilung setzt, so zeigen die Stämme 20 bis 34 - nach MANNHEIM und STENZEL (1962) A. mucosus, nach BAUMANN et al. (1968) A1 und nach JOHNSON et al. (1970) Gruppe 1 - ein dieses Grenze zum Teil deutlich überschreitendes Wachstum. Somit zeigt - im Vergleich zur Stammgruppe (I) - eine große Anzahl der Stämme aus Gruppe (II) neben einem höheren Temperaturmaximum auch einen höheren Wachstumsertrag.

Stamm 19 wächst langsamer, obwohl er sich hier biochemisch und bei JOHNSON et al. (1970) auch genetisch nicht von den Stämmen 20 bis 34 unterscheidet. Damit wird die Vermutung von BAUMANN et al. (1968) unterstützt, daß es sich bei diesem Stamm um eine nach 60 Jahren Kultivierung entstandene Defektvariante dieser Gruppe handelt.

Verschieden verhält sich der höchste Wachstumsertrag in 24 Stunden bei den Stämmen 35 bis 40, Stamm 37

und 38 überschreiten den Grenzwert deutlich, während die Stämme 35, 36, 39 und 40 darunter liegen. Wie vor allem auch das unterschiedliche Temperaturmaximum zeigt, verhalten sich diese Stämme so uneinheitlich in ihren Temperaturbedürfnissen, daß eine weitere Unterteilung zu diskutieren ist. Nach den vorliegenden Ergebnissen scheint mit Hilfe des Temperaturmaximums eine Zuordnung zur Gruppe (I) bzw. (II) gerechtfertigt. Dies entspricht auch den Befunden von BAUMANN et al. (1968) und JOHNSON et al. (1970). Eine sichere weitere Unterteilung mit Hilfe des Verhaltens im Temperaturgradienten-Inkubator ist nicht gerechtfertigt, wenn auch der höchste Wachstumsertrag der in Gruppe (II) eingeordneten Stämme eine Zweiteilung möglich erscheinen läßt.

Das Temperaturoptimum des Wachstumsertrages alleine läßt keine taxonomischen Aussagen zu. Doch in Verbindung mit den oben diskutierten Parametern und unter Berücksichtigung der Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen kann man auch hier eine Zweiteilung erkennen. So liegt bei den Stämmen 1 bis 7 und 8 bis 18 das Temperaturoptimum des Wachstumsertrages bei einem Mittelwert von $32,3$ bzw. $32,7^{\circ}\text{C}$, während der Mittelwert bei den Stämmen 19 bis 34 $36,7^{\circ}\text{C}$ beträgt. Stamm 7, der sich schon in seinem höchsten Wachstumsertrag als Ausnahme zeigte, hat ein höheres Temperaturoptimum des Wachstumsertrages als die Stämme 1 bis 6. Doch scheint sich gerade die biochemisch einheitliche Stammgruppe 1 bis 7 durch eine stärkere Variabilität auszuzeichnen, wie die Knopfbildung der Kolonien nach längerer Bebrütung andeutet.

Die maximalen Wachstumsraten der Stämme 1,13 und 34 lassen ebenfalls deutliche Unterschiede erkennen. Dieses Kriterium unterstützt die bisher diskutierte Einteilung; auch macht es die Unterteilung der Stämme der Gruppe (I) in zwei weitere Einheiten wahrscheinlich.

E. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der Bebrütungs-temperatur auf das Wachstum einiger repräsentativer Vertreter der Acinetobacter-Gruppe mit Hilfe eines Temperaturgradienten-inkubators (modifiziert nach ELLIOT, 1962) studiert. Das Wachstum wurde turbidimetrisch registriert. Durch Analyse der Temperatur-Wachstumsprofile wurden die Kardinaltemperaturen des Wachstums bestimmt. Bei ausgewählten Stämmen wurde ferner der Einfluss der Temperatur auf die Wachstumsrate bei unterschiedlichem Substratangebot untersucht.

Als taxonomisch verwertbare Parameter erwiesen sich das Temperaturmaximum, der grösste Wachstumsertrag in einer festgelegten Zeiteinheit, das Temperaturoptimum des Wachstums-ertrages und die maximale Wachstumsrate. Mit Hilfe dieser Kriterien lassen sich zwei Obergruppen unterscheiden, deren erste noch in zwei Untergruppen zerfällt. Diese Einteilung stimmt gut mit den Befunden von BAUMANN et al. (1968), JOHNSON et al. (1970) sowie MANNHEIM und STENZEL (1962) überein. Uneinheitlich verhielt sich die nach den bei MANNHEIM und STENZEL (1962) angegebenen Merkmalen bestimmte Species A. citroalcaligenes, sodass eine weitere Aufspaltung dieser taxonomischen Gruppe zu diskutieren ist.

ed. Nr.	orig. Stammmummer	orig. Bezeichnung	weitere Sammlungsnummern
1	34846/64	Mima polymorpha	21-3 HIM
2			365-2 HIM + D2 + ATCC 9957
3	V 6241/68 Köln		265-4 HIM
4			33-2 HIM, 5866 NCTC (Steel and Cowan 1963; Lwoff, Paris)
5	ST 661-60 -K3 Heidelberg	Moraxella lwoffii var. nonliquefaciens	24-1 HIM
6	5382 I.P.		37 -3 / 367-6 HIM
7	H 315		365-4 HIM + D19 + Blutkultur
8	A 165 I.P.	Achromobacter haemolyticus subspecies haemolyticus	100-1 (Serotyp 6f) HIM
9	2446/60 Heidelberg		22-2 (Serotyp 2b)/146-1/191-4
			193-2 HIM + D40 + ATCC 17906 (10305 NCTC)
			143-2 (Serotyp 7d) /127-2 HIM
10	53116 I.P.	Achromobacter haemolyticus subspecies haemolyticus	100-2 (Serotyp 8e) HIM
11	5371 I.P.		234-3 (Serotyp 9b) HIM, Subkultur von 37-4 HIM
12	5367 I.P.		45-3 (Serotyp 4c) /146-2 HIM
13	66/24/64		232-2 HIM - 8698 NCTC - Billing 1952
14		Achromobacter haemolyticus subspecies alcaligenes	23-1 (Serotyp 3b) / 145-1 HIM
15	2181/61 Heidelberg		ATCC 17907 / 10306 NCTC

l.f. Nr.	orig. Stammmummer	orig. Bezeichnung	weitere Sammlungsnumm. err.
16	58290/64		141-2 (Serotyp 5b) / 38-3 HIM
17	P 544/60 Heidelberg	Achromobacter conjunctivae	25-5 (Serotyp 1a) / 366-4 HIM ATCC 17905 / 10304 NCTC
18	231/61 Heidelberg		99-1 (Serotyp 1a) / 142 - 1 / 237 - 1 HIM
19	Originalstamm isoliert von Beijerinck	Micrococcus calcoaceticus	367 - 5 / 362 - 8 HIM + D46 - Stamm 1 der Techn.Hochschule Delft, Holland (ATCC 23055)
20	FMS 16/11/67 Essen		225-1 HIM
21	Bakt. 1761/10/67 Essen		227-2 HIM
22	Originalstamm von M. Piéchaud	Moraxella glucidolytica var. nonliquefaciens	365-1 HIM + D68 + Sputum
23	H.O.3 von R.E.Kallio	Micrococcus cerificans	367-1 HIM
24		Herellea vaginicola	229-1 HIM + MHD 11/30 Catlin
25	Bakt. 402/2/68 Essen		227-3 HIM
26		Acinetobacter anitratus	D52 + 7364 NCTC
27	Bakt. 1263/1/68 Essen		227-4 HIM
28	3516/60 HIM	Achromobacter mucosus	21-1 HIM/ATCC 17904/10303 NCTC
29	FMS 48/11/67 Essen		225-3 HIM
30		Herellea vaginicola	228-3 HIM + MHD 305 Catlin
31	M 215/69 Köln		331-3 HIM

lfd. Nr.	orig. Stamnummer	orig. Bezeichnung	weitere Sammlungsnummern
32	CDC 7788	Herellea vaginicola	366-6 HIM ← D55 / ATCC 17961
33			33-1 HIM ← 7844 NCTC (Batch2) ← Steel and Cowan, 1963 ← Schaub 225-2 HIM
34	Bakt.840/12/67 Essen	"Vibrio 01"	367-2 HIM ← D94 ← ATCC 11171
35		Moraxella lwoffii var.	366-7 HIM ← D98 ← von einer
36	5382 I.P.	nonliquefaciens	Meningitis / ATCC 17976
37	3597	Moraxella lwoffii	366-3 HIM ← D99 ← P.D.Mitchell
38	CDC 7827	Mima polymorpha	367-8 HIM ← D100 ← P.L.Mitchell, ATCC 17959
39	2723/59 Heidelberg	Achromobacter citroalcaligenes	22-1 HIM / ATCC 17908 / 10307 NCTC
40	IV-3203 Leipzig		14-5 HIM

Zeichenerklärung: ATCC = American Type Culture Collection; D = Dr. M. Doudoroff, University of California, Berkeley, Ca.; HIM = Hygiene-Institut der Universität Marburg, Marburg; I.P. = Institut Pasteur, Paris; NCTC = National Collection of Type Cultures, London.

Tabelle 1: Liste der untersuchten Mikroorganismen

Stamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Glucose	(+)	(+)	-	-	-	(+)	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Lactose	(+)	(+)	-	-	-	(+)	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Arabinose	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Xylose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Gelactose	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Gelatine	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Stärke	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Harnstoff	(+)	(+)	-	-	-	(+)	-	+	+	-	(+)	-	-	+	(+)	-	+	+	+	+
Ammonium-citrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ammonium-ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leifson-A. Hamolyse auf Blutagar	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MANNHEIM u. STENZEL (1962)	A. metalcaligenes							A. conjunctivae A. haemolyticus												
BAUMANN (1968)	B2						B2	B4						B4						A. mu-cosus
JOHNSON (1970)	5						5	2						2						1

Tabelle 2a: biochemische Charakterisierung der Stämme 1 bis 20, den Einteilungsvorschlägen anderer Autoren gegenübergestellt. (Zeichenerklärung: + = positive Reaktion, (+) = schwach positive oder verzögerte Reaktion, - = negative Reaktion, A = Alkalisierung)

Stamm	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Gelatine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stärke	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ammonium-citrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ammonium-äthanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leifson-A.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hämolyse auf Blutagar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. mucosus																				
A. citrocalcaligenes																				
STENZEL (1962)						A1						A1			A3	A2	A3	A2	B1	
BAURANN (1968)																				
JOHNSON (1970)															5	1		1		

Tabelle 2b: biochemische Charakterisierung der Stämme 21 bis 40, den Einteilungsvorschlägen anderer Autoren gegenübergestellt. (Zeichenerklärung: + = positive Reaktion, (+) = schwach positive oder verzögerte Reaktion, - = negative Reaktion, A = Alkalisierung)

Stamm-Nr.	höchster Wachstumsertrag	Stamm-Nr.	höchster Wachstumsertrag
1	0,077 - 0,103	21	0,280
2	0,080	22	0,365
3	0,068 - 0,084	23	0,395 - 0,450
4	0,084	24	0,450 - 0,610
5	0,084	25	0,490
6	0,095	26	0,610
7	0,156	27	0,630
8	0,095	28	0,630
9	0,103	29	0,680
10	0,120 - 0,162	30	0,680
11	0,133	31	0,680
12	0,156 - 0,214	32	0,710 - 0,760
13	0,205	33	0,710 - 0,760
14	0,214 - 0,280	34	0,760
15	0,240 - 0,300	35	0,760
16	0,270 - 0,290	36	0,222
17	0,240 - 0,315	37	0,415 - 0,520
18	0,305	38	0,490 - 0,540
19	0,162	39	0,126
20	0,280 - 0,300	40	0,270

Tabelle 3: höchster Wachstumsertrag nach 24 Stunden in mg Bakterientrocken-
gewicht/ml

Stamm Nr.	Medium	höchster Wachstumsertrag (mg/ml) nach		
		24h	48h	72h
1	Komplex	0,077-0,103	0,222	-
	Succinat	0,021	0,031	0,074
	Glutaminat	0,014	0,024	0,028
	Äthanol	0,045	0,103	0,156
13	Komplex	0,205	0,680	-
	Succinat	0,026	0,071	0,134
	Glutaminat	0,091	0,172	0,190
	Äthanol	-	-	-
34	Komplex	0,760	1,110	-
	Succinat	0,138	0,250	0,317
	Glutaminat	0,169	0,290	0,350
	Äthanol	0,147	0,490	0,680

Tabelle 4: höchster Wachstumsertrag in Abhängigkeit vom Substrat

Stamm. Nr.	Medium	Temperaturoptimum des Wachstumsertrages (°C) nach			
		12h	24h	48h	72h
1	Komplex	29,7-33,3	27,8-31,5	31,5-33,3	-
	Succinat		24,2-27,8	24,2-27,8	24,2
	Glutaminat	24,2-29,7	24,2-29,7	24,2-29,7	22,4-27,1
	Äthanol	26,0	24,2-26,0	24,2-26,0	24,2
13	Komplex	29,7-31,5	29,7-31,5	31,5	-
	Succinat	35,2	35,2	33,3	31,5-33,3
	Glutaminat	31,5	29,7-31,5	29,7	27,8-29,7
	Äthanol	-	-	-	-
34	Komplex	38,2-40,7	37,1-40,7	31,5-40,7	-
	Succinat	40,7	35,2-38,9	35,2-38,9	31,5
	Glutaminat	40,7-42,6	40,7-42,6	37,1-38,9	35,2-37,1
	Äthanol	37,1-38,9	33,3-35,2	33,3-37,1	35,2-37,1

Tabelle 5: Temperaturoptimum des Wachstumsertrages ausgewählter Stämme in Abhängigkeit vom Substrat

Stamm Nr.	Temperaturoptima (Raten) in °C in			
	komplexem M.	Succinat-M.	Glutaminat-M.	Äthanol-M.
1	35,2	35,0	29,6	26,3
13	31,5	35,0	32,0	-
34	38,0	40,0	37,6	35,0

Tabelle 6: Temperaturoptima (maximale Wachstumsraten) ausgewählter Stämme in Abhängigkeit vom Substrat.

Stamm Nr.	μ-Wert in			
	komplexem M.	Succinat-M.	Glutaminat-M.	Äthanol-M.
1	24 400	20 800	23 500	14 700
13	16 100	15 800	29 200	-
34	14 900	22 600	27 800	22 400

Tabelle 7: μ-Werte ausgewählter Stämme in Abhängigkeit vom Substrat

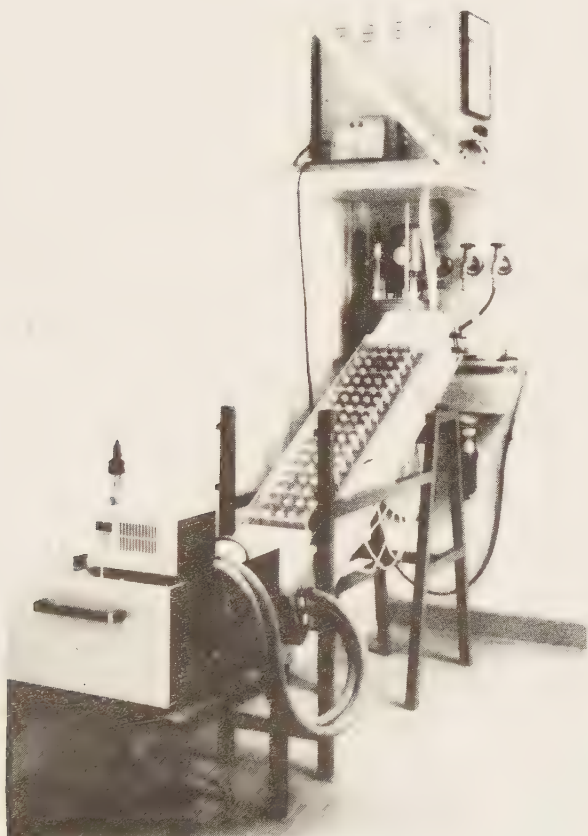


Abbildung 1: Temperaturgradienten-Inkubator (modifiziert nach ELLIOT, 1962)

- a) Kältethermostat, durch zwei isolierte Plastikschläuche für den Ein- und Ausfluß der Kühlflüssigkeit mit dem Inkubator verbunden;
- b) in einer Neigung von 45° stehender Aluminiumblock mit unterteiltem Plexiglasdeckel, eingesteckten Kulturröhrchen und Polystyrolisolierung;
- c) Thermostat, doppelläufig mit dem Inkubator durch Plastikschläuche für die erwärmte Flüssigkeit gekoppelt;
- d) Temperaturschreiber, verbunden mit den am Boden des Inkubators eingesetzten Widerstandsthermometern.

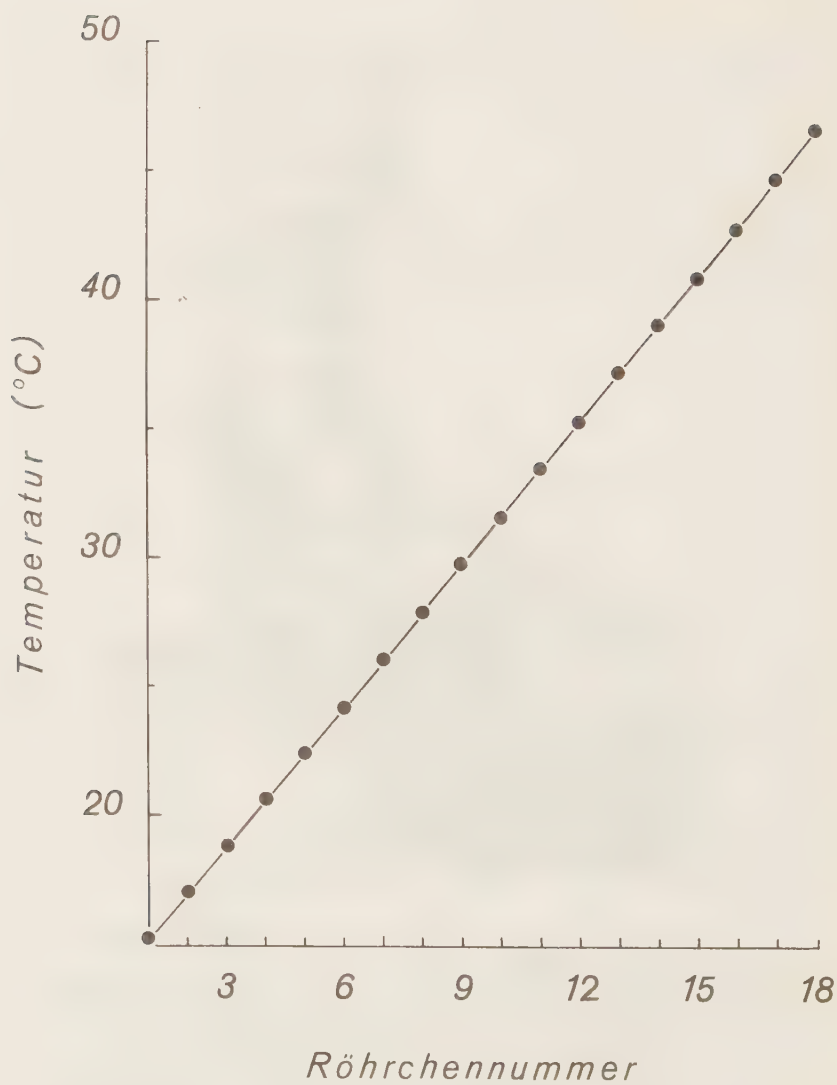


Abbildung 2: Der in der vorliegenden Arbeit benutzte Temperaturgradient mit den Messwerten aus der mittleren Reihe des Inkubators.

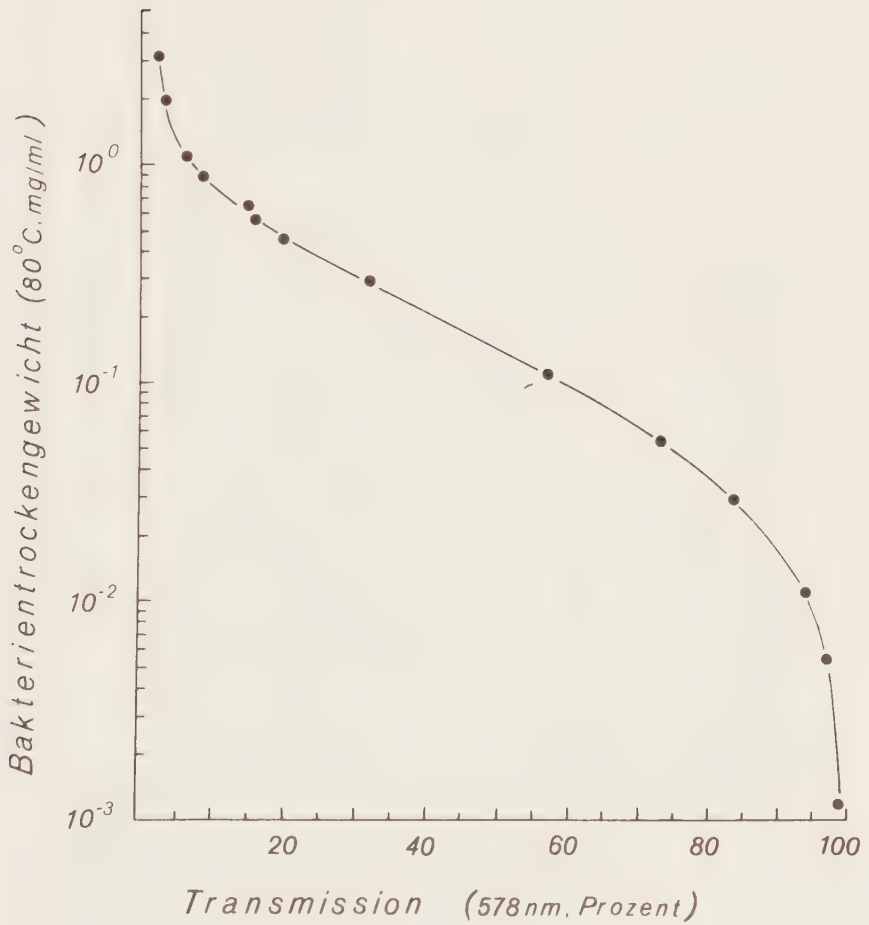


Abbildung 3: Beziehungen zwischen Transmission und Bakterientrockengewicht bei Stamm 5.

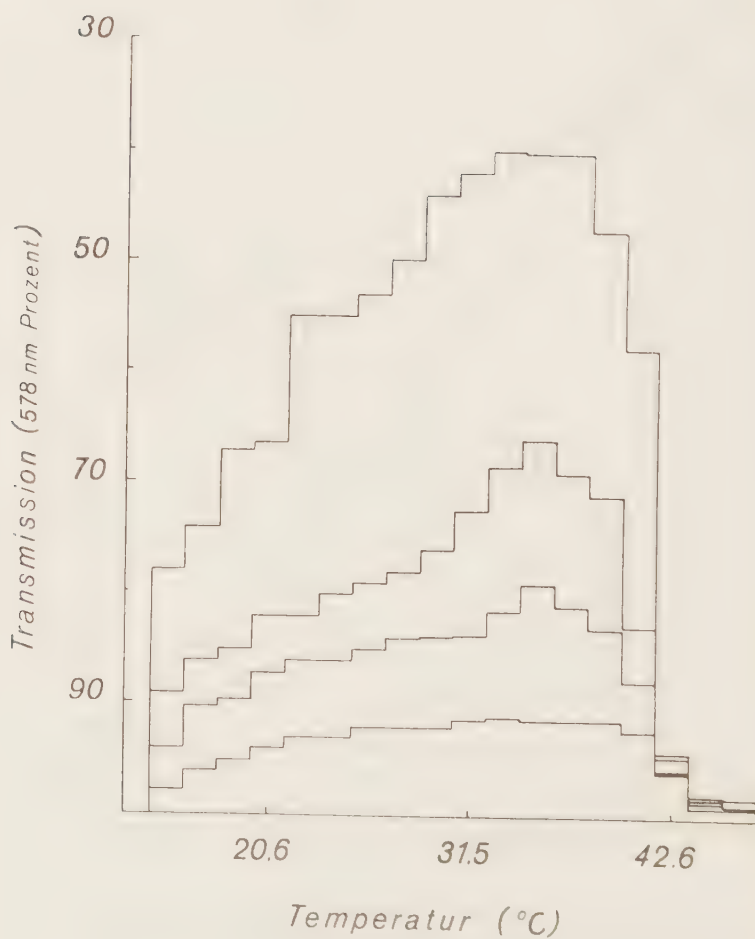


Abbildung 4: Temperatur-Wachstumsprofil des Stammes 14 nach 4, 8, 12 und 24 Stunden.

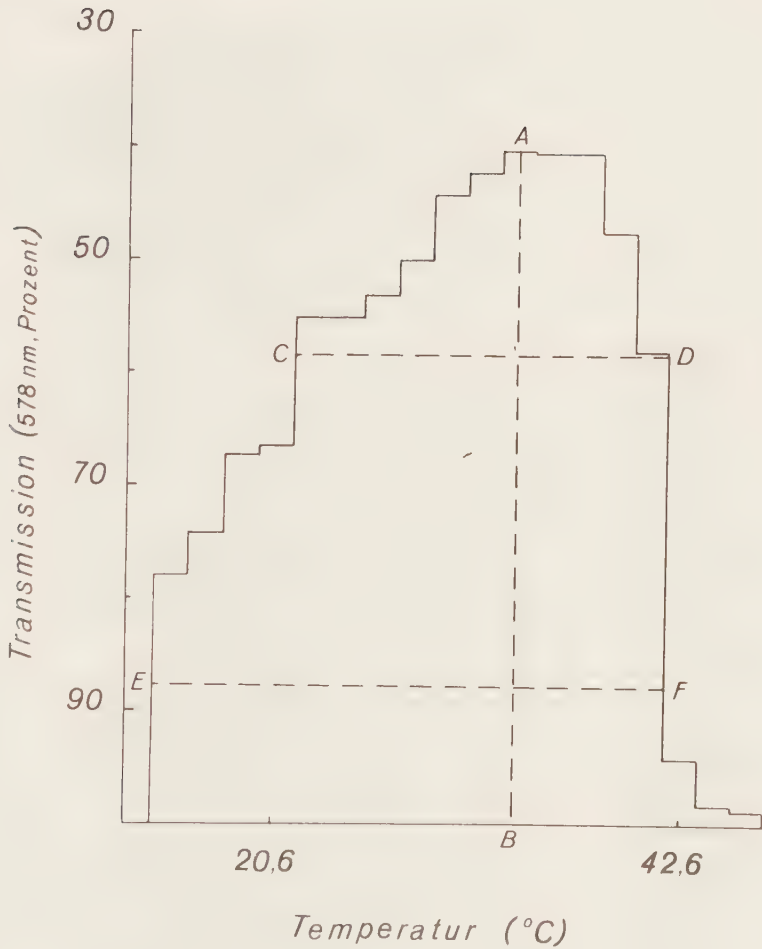


Abbildung 4a: Temperatur-Wachstumsprofil des Stammes 14 nach 24 Stunden mit den in dieser Arbeit verwendeten Parametern: **A** = Temperaturoptimum des Wachstumsertrages, **A-B** = höchster Wachstumsertrag nach 24 Stunden, **C-D** = 50% des Gesamtwachstums, **E-F** = 10% des Gesamtwachstums.

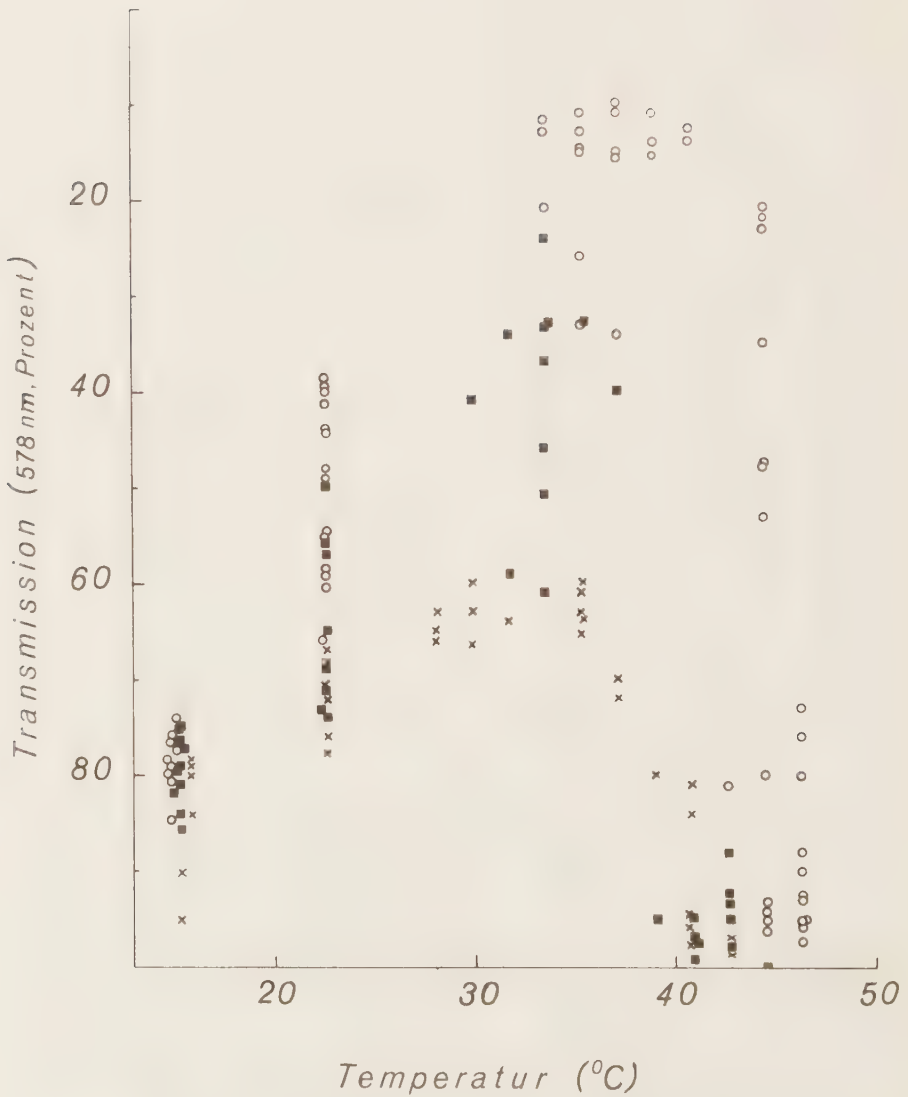


Abbildung 5: Temperaturabhängigkeit des Wachstums-
ertrages der Stämme 1 - 6 (x), 8 - 18 (■) und 20 -
34 (o).

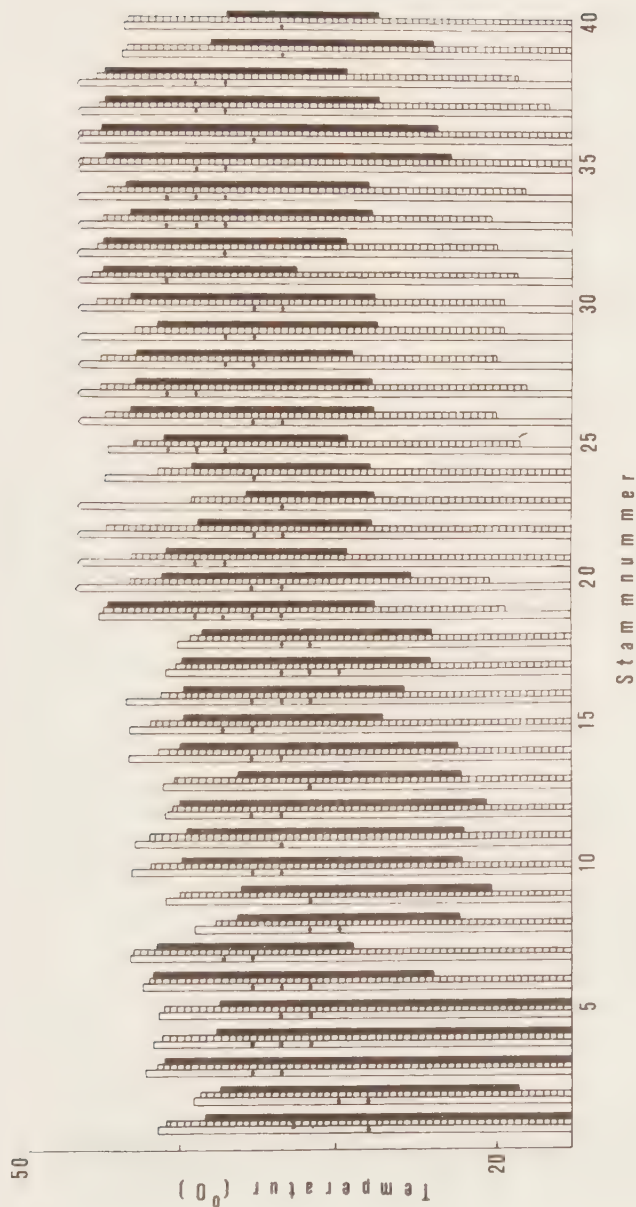


Abbildung 6: Temperaturbereiche des Wachstums der untersuchten Stämme. □ = Gesamttemperaturbereich des Wachstums, ▨ = 10%-Bereich des höchsten Wachstumsertrages, ■ = 50%-Bereich des höchsten Wachstumsertrages nach 24 Stunden, ● = Temperaturoptimum des Wachstumsertrages nach 24 Stunden

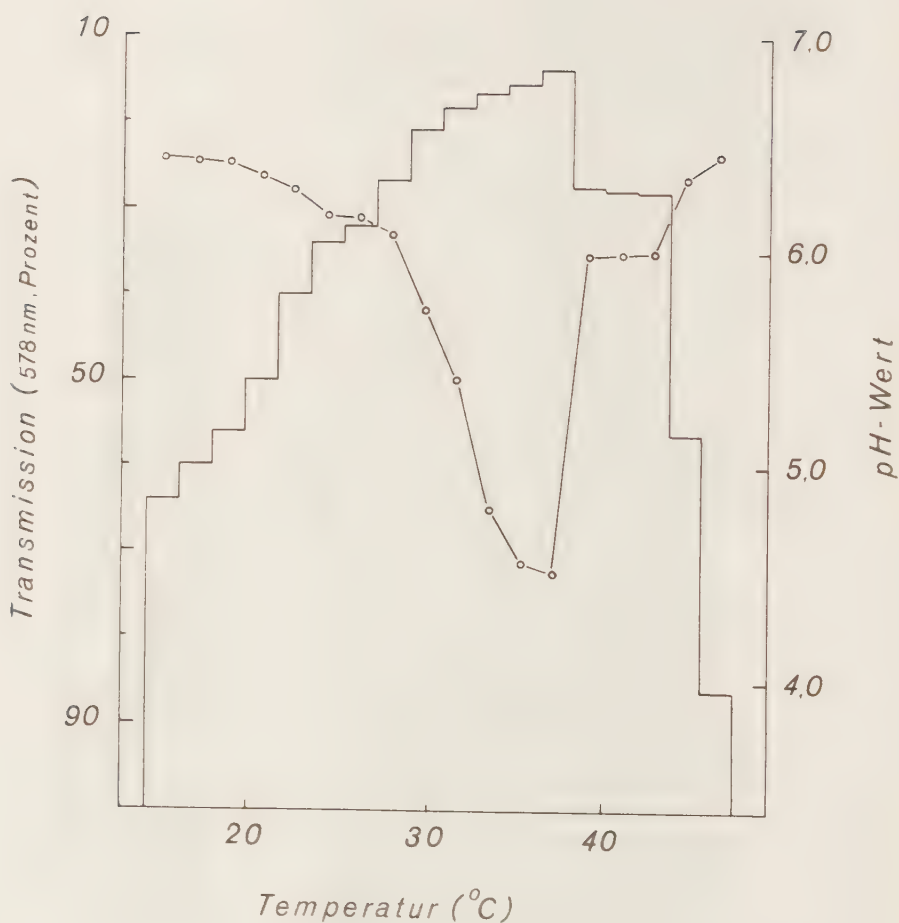


Abbildung 7: Beziehungen zwischen Temperatur-Wachstumsprofil und pH-Wert von Stamm 34 in Ammoniumäthanol-Medium nach 72 Stunden Bebrütung.

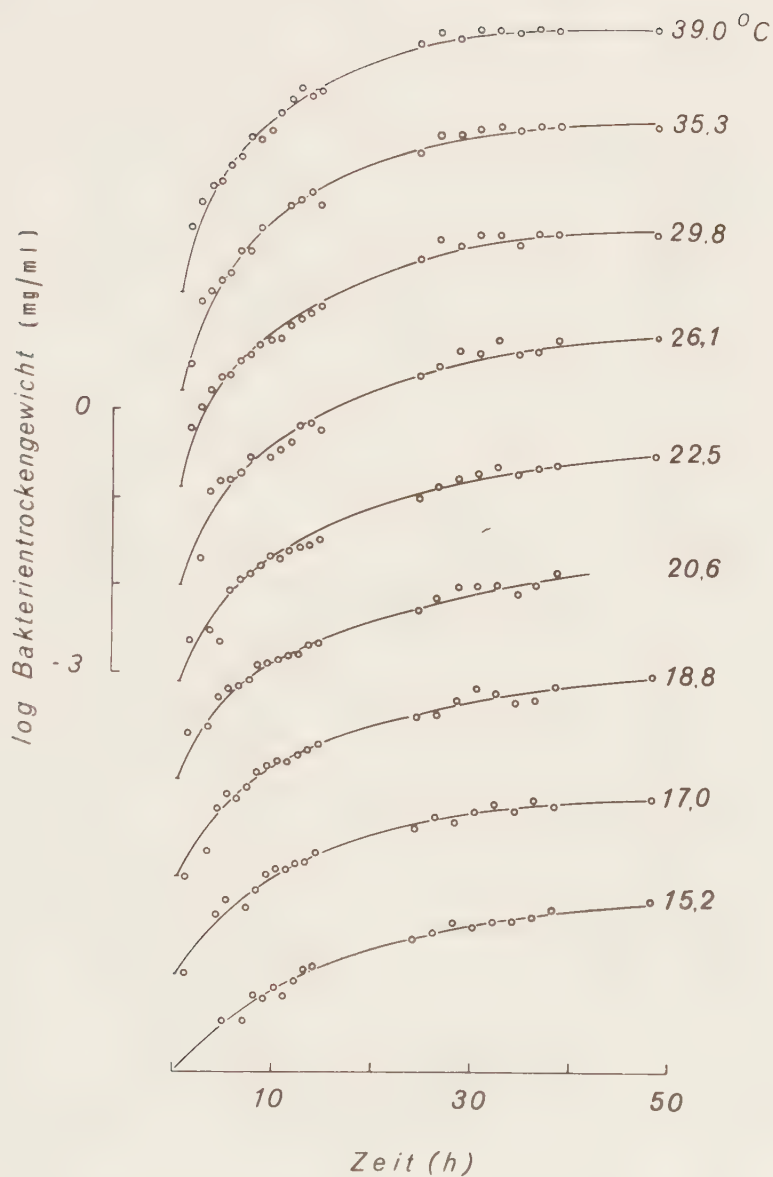


Abbildung 8: Wachstumskurven von Stamm 34 bei verschiedenen Kultivierungstemperaturen.

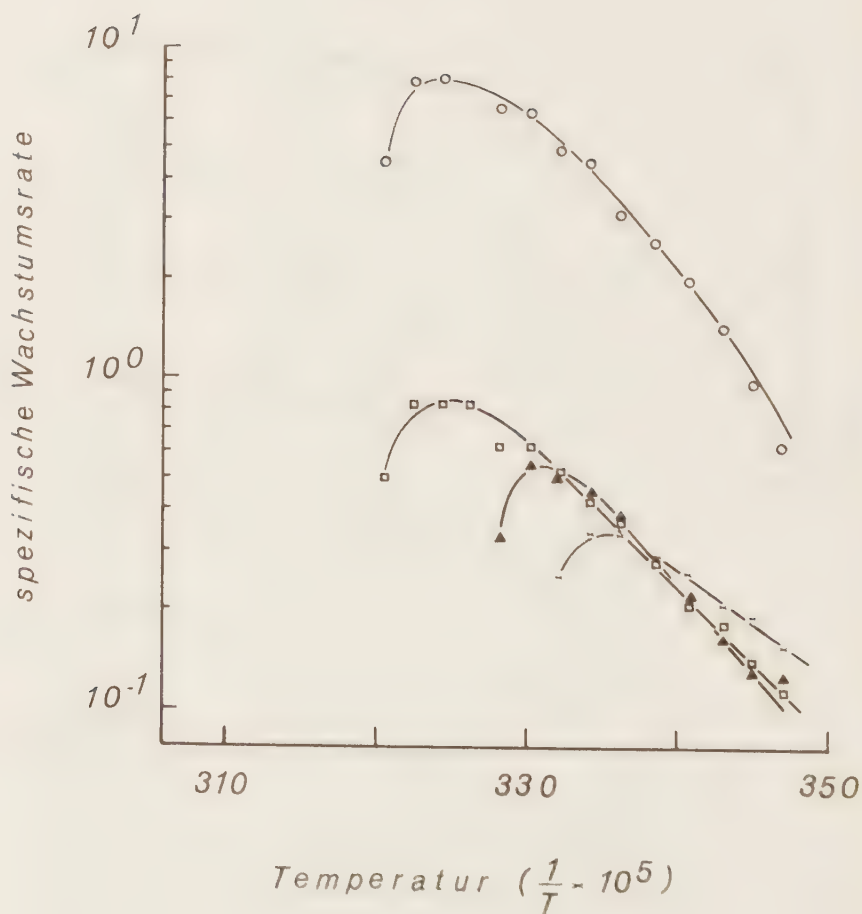


Abbildung 9: Arrhenius-typische Darstellung der wachstumsrate von Stamm 1 in Abhängigkeit vom Substrat: o = Komplexes Medium, □ = Succinat-Medium, ▲ = Glutamat-Medium, x = Ammoniumäthanol-Medium.

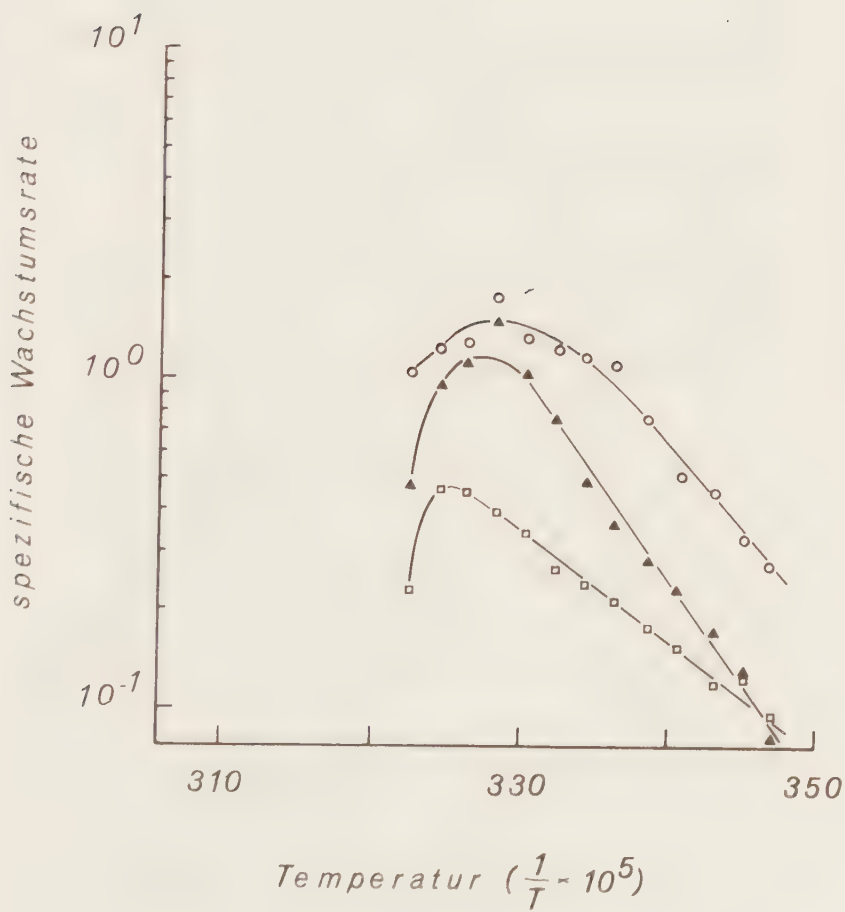


Abbildung 10: wie Abbildung 9 mit Daten des Stammes 13.

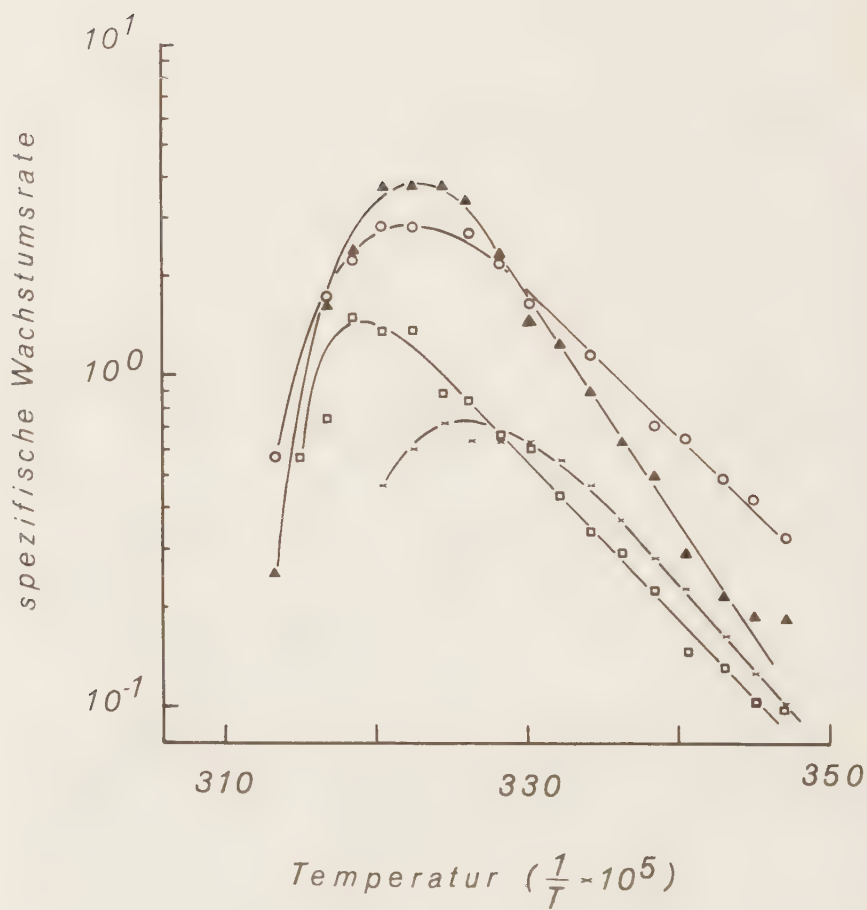


Abbildung 11: wie Abbildung 9 mit Daten des Stammes 34.

Literatur

- BAUMANN, P., M. DOUDOROFF und R.Y. STANIER, 1968. A study of the moraxella-group. II. Oxydase-negative species (Genus Acinetobacter). J. Bact. 95 (5): 1520-1541.
- BAUSUM, H.T., O. E. LANDMANN und T. S. MATNEY, 1960. The temperature-gradient plate and its application. Bacteriol. Proc. 55.
- CANNEFAX, G. R., 1962. The temperature-gradient bar and its application to the study of temperature effects on the growth of Reiter's treponeme. J. Bact. 83: 708-710.
- DAVEY, C.B. und R. J. MILLER, 1966. Correlation of temperature-dependent water properties and growth of bacteria. Nature 209: 638.
- DOWNEY, R.J., 1966. Nitrate reductase and respiratory adaption in Bacillus steatothermophilus. J. Bact. 91: 634.
- ELLIOT, R.P., 1963. Temperature-gradient incubator for determining the temperature range of growth of microorganisms. J. Bact. 85: 889-894.
- ELLIOT, R.P. und P. K. HEINIGER, 1965. Improved temperature-gradient incubator and the maximal growth temperature and heat resistance of salmonella. App. Microbiol. 13 (1): 73-76.
- FOTER, M.J. und O. RAHN, 1936. Growth and fermentation of bacteria near their minimum temperature. J. Bact. 32: 485-497.
- HALLDAL, P. und C.S. FRENCH, 1956. The growth of algae in crossed gradients of light intensity and temperature. Carnegie Inst. Washington, Year Book 55: 261-265.
- HALLDAL, P., 1957. Effect of light and temperature on pigment ratios in blue-green algae. Carnegie Inst. Washington, Year Book 56: 272-275.

- HALLDAL, P., H.S. HUANG und C.S. FRENCH, 1957. Growth patterns of various algae in crossed gradients of light intensity and temperature. Carnegie Inst. Washington, Year Book 56: 275- 278.
- HALLDAL, P., 1958. Pigment formation and growth in blue-green algae in crossed gradient of light intensity and temperature. Physiol. Plantarum II: 401-420.
- HALLDAL, P. und C.S. FRENCH, 1958. Algal growth in crossed gradients of light intensity and temperature. Plant. Physiol. 33: 249-252.
- HENSON, W.A., 1957. Temperature reference of grylloblatta campodeiformis walker. Nature 179: 637.
- HENRIKSEN, S.D., 1963. Mimae. The standing in nomenclature of the names of this tribus and of its genera and species. Int. Bullett. Bact. Nomencl. 13 (1): 51 - 58.
- HINSHELWOOD, C. N., 1966. The chemical kinetics of bacterial cell. Oxford University Press, London and New York.
- INGRAHAM, J.L., 1958. Growth of psychrophilic bacteria. J. Bact. 76: 75-80.
- INGRAHAM, J. L. und G.F. BAILEY, 1959. Comparative study of the effect of temperature on the metabolism of psychrophilic and mesophilic bacteria. J. Bact. 77: 609-613.
- INGRAHAM, J. L., 1962. Temperature relationships. In GUNSALUS, I.C. und R.Y. STANIER, The Bacteria, Vol. IV: The physiology of growth. Academic Press, New York and London.
- INGRAHAM, J.L. und MAALØE, 1967. Cold sensitive mutants and the minimum temperature of growth of bacteria. In PROSSER, C.L. (editor), Molecular Mechanisms of Temperature Adaption. AAAS Publication No.84, Washington, D.C.
- JOHNSON, J.L., M.S. ANDERSON und E.J. ORDAL, 1970. Nucleic acid homologies among oxyd se-negative moraxella species. J. Bact. 101 (2): 568-573.

- KAUFFMANN, F., 1954. Enterobacteriaceae. Ejnar Munksgaard Publishers (2nd edition), Copenhagen.
- KAUFFMANN, F., 1966. The bacteriology of enterobacteriaceae. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- LAMANNA, C. und M.F. MALLETT, 1965. Basic bacteriology. The Williams & Wilkins Company (3rd edition), Baltimore.
- LANDMANN, O.E., H.F. BAUSUM und T.S. MATNEY, 1962. Temperature-gradient plates for growth of microorganisms. J. Bact. 83: 463-469.
- MANNHEIM, W. und W. STENZEL, 1962. Zur Systematik der obligat aeroben gramnegativen Diplobakterien des Menschen. Zentralblatt für Bakt. 186: 55-83.
- MANNHEIM, W., 1967. Die Klassifizierung humaner Achromobacteriaceae. Zentralblatt für Bakt. 205: 219-234.
- MONOD, J., 1942. La croissance des cultures bactériennes. Actualités scientifiques et industrielles, No. 911, Hermann & Cie, Paris.
- OBERZILL, W., 1967. Mikrobiologische Analytik. Verlag Hans Carl, Nürnberg.
- OGINSKY, E. und W.W. UMBREIT, 1959. An introduction to bacterial physiology (2nd edition). W. H. Freeman & Co, San Francisco.
- OPPENHEIMER, C.H. und W. DROST-HANSEN, 1960. The relationship between multiple temperature optima for bacterial systems and the properties of water. J. Bact. 80: 21-24.
- RON, E.Z. und M. SHANI, 1971. Growth rate of E. coli at elevated temperatures: reversible inhibition of homoserin trans-succinylase. J. Bact. 107 (2): 397-400.
- SELWYN, M.J., 1961. An apparatus for maintaining a range of constant temperatures. J. Biochem. 79: 38.
- SINCLAIR, N.A. und J.L. STOKES, 1963. Role of oxygen in the high cell yield of psychrophiles and mesophiles at low temperatures. J. Bact. 85: 164-167.

- 10 -

SQUIRES, C.L., 1974. *Neuergebnisse und ihre Auswertung*. De Gruyter Verlag, Berlin und New York.

STENKE, W. und W. MANNHEIM, 1963. On the classification and nomenclature of some nonmotile and coccoid diplobacteria, exhibiting the properties of *Acetobacteriaceae*. Int. Bullett. Bact. Nomencl. 13 (4): 195-200.

Lebenslauf

Am 30. 9. 1943 wurde ich, Harro Simon, als zweites Kind des Diplom Ingenieurs Kurt Simon und seiner Ehefrau Aga, geborene Schaub, in Zossen Kreis Teltow geboren.

Nach der Flucht aus Zossen und mehrmaligen Wohnortwechsel ließen sich meine Eltern 1947 in Fürstenfeldbruck nieder. Hier besuchte ich von 1949 bis 1953 die Volksschule. 1953 trat ich in das humanistische Theresien-Gymnasium in München ein. 1957 zogen wir nach Philippsburg Kreis Bruchsal. In Bruchsal besuchte ich bis 1961 das Schönbron-Gymnasium. 1961 verlegten wir unseren Wohnsitz nach Nieder-Bachrach Kreis Freilberg. Von hier aus besuchte ich die Kaiserin-Friedrich-Schule in Bad Homburg v.d.H., wo ich 1965 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1965 begann ich an der Universität Frankfurt mit dem Studium der Humanmedizin. Nach dem Sommersemester 1968 wechselte ich an die Universität Marburg. Hier schloß ich am 12. 8. 1971 mein Studium mit dem Staatsexamen ab.

Im Wintersemester 1969/70 begann ich mit der Dissertationsarbeit zum Dr. med. im Hygiene-Institut der Universität Marburg unter Anleitung von Herrn Prof. Dr.med. Mannheim.

Meine akademischen Lehrer waren die Frauen und Herren Professoren und Dozenten:

in Frankfurt: Frick, Greven, Halbsguth, Lindauer, Müller, Müser, Rosenstock, Rotter, Schneider, Schröder, Seubert, Starck, wezler, Zahn

in Marburg: Beckmann, Berendes, Bommer, Buchholz, Daume, Dittrich, Dölle, Exner, Friedrich, Ganz, Graul, Hamelmann, Hardewig, Hort, Jacob, Knauff, Koransky, Kolb, Linneweh, Mannheim, Martini, Pots, Rodeck, Schiff, Schleyer, Schmid, Schmitz-Moormann, Siegert, Siess, Solcher, Straub, Strohmeier, Voss.

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Universität Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

Die Temperaturbedürfnisse des Wachstums der
Acinetobactergruppe (Eine taxonomische Studie)

im Hygiene-Institut der Philipps-Universität Marburg
(Leitung: Herr Professor Dr. med. R. Siegert)
unter Leitung von Herrn Professor Dr.med. W. Mannheim ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Hochschule einem Fachbereich Humanmedizin ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

